HEALTH CANADA
HEALTH PRODUCTS AND FOOD BRANCH
FOOD DIRECTORATE

- FINAL REPORT -

TECHNICAL DISCUSSION ON THE HEALTH AND SAFETY ASPECTS OF THE GOVERNMENT OF CANADA ACTION PLAN

TUESDAY, APRIL 30, 2002
CHATEAU CARTIER
GATINEAU, QUEBEC

TABLE OF CONTENTS

1 INTRODUCTION AND BACKGROUND 3

2 WELCOME AND OPENING REMARKS 4

3 PRESENTATIONS 5
- 3.1 OVERVIEW OF THE CODEX GUIDELINES FOR THE CONDUCT OF FOOD SAFETY ASSESSMENT OF FOODS DERIVED FROM rDNA PLANTS 5
- 3.2 MOLECULAR CHARACTERIZATION: KEY CONSIDERATION IN THE SAFETY ASSESSMENT OF NOVEL FOODS 5
- 3.3 DNA MICROARRAY TECHNOLOGY: APPLICATIONS AND USES 5
- 3.4 TOXICOLOGY AND ALLERGENICITY - OVERVIEW OF CURRENT AND FUTURE RESEARCH 6
- 3.5 DIETARY PHYTOESTROGENS: SAFETY, NUTRITIONAL QUALITY AND HEALTH CONSIDERATIONS 6
- 3.6 UPDATE ON THE BIOTECHNOLOGY SURVEILLANCE PROJECT 6

4 BREAKOUT GROUP DISCUSSIONS 7
- 4.1 MOLECULAR CHARACTERIZATION 7
- 4.2 ALLERGENICITY CONSIDERATIONS 7
- 4.3 TOXICOLOGICAL CONSIDERATIONS 7
- 4.4 NUTRITIONAL CONSIDERATIONS 8
- 4.5 POST-MARKET SURVEILLANCE 9

5 NEXT STEPS AND CONCLUDING REMARKS 10
- TABLE 1 SUMMARY OF THE RESEARCH NEEDS IDENTIFIED IN THE DIFFERENT BREAKOUT GROUPS 11

6 EVALUATION 12

7 LIST OF PARTICIPANTS 13

APPENDIX
- I DNA MICROARRAY TECHNOLOGY: APPLICATIONS AND USES FOR THE HEALTH AND FOOD SAFETY OF GM-FOODS 18
- II TOXICOLOGY AND ALLERGENICITY - ISSUES, CHALLENGES, AND CURRENT RESEARCH IN THE FOOD DIRECTORATE 20
- III HEALTH CANADA WORKSHOP ON ANIMAL MODELS TO DETECT ALLERGENICITY TO FOODS AND GM-PRODUCTS (NOVEMBER 2001, OTTAWA, ONTARIO, CANADA) 24
- IV DIETARY PHYTOESTROGENS, SAFETY, NUTRITIONAL QUALITY AND HEALTH CONSIDERATIONS 28
- V TECHNICAL DISCUSSION PROGRAMME 30

1. INTRODUCTION AND BACKGROUND

The Government of Canada must ensure that it will have the necessary scientific and regulatory capacity to adequately regulate future products derived from biotechnology. In November 2001, the Government of Canada published an action plan in response to the Expert Scientific Panel of the Royal Society of Canada report entitled: Elements of Precaution: Recommendations for the Regulation of Food Biotechnology in Canada[1]. The action plan describes specific actions and projects that the federal government intends to carry out in response to the Expert Panel's recommendations. In this action plan, Health Canada and other departments also commit to collaborate with external experts to further enhance the regulatory processes and protocols.

Consistent with these commitments, Health Canada held a technical discussion on April 30, 2002.

The main objectives of the session were:

- to seek input on how to further develop Health Canada's ongoing or planned research projects identified in the action plan dealing with the health and safety aspects of genetically modified foods (GM-foods), and
- to identify new activities to be initiated, ensuring the continued technical contribution and collaboration of external experts with the Government of Canada.

The session format included presentations, breakout sessions and plenary reports. Presentations and discussions were grouped around five themes: molecular characterization; allergenicity; toxicology; nutrition and long-term surveillance. During the breakout sessions, participants were asked to identify the research needs in the area being discussed and prioritize these needs. They were then asked to identify the research that is currently being carried out by other organizations and identify possible collaborative work opportunities. For those research needs not currently being undertaken, participants were asked to identify how these needs could be met.

Approximately 50 experts attended the technical discussion from academia, the former Royal Society Expert Panel on the future of food biotechnology, the Canadian Biotechnology Advisory Committee (CBAC), non-governmental organizations and industry.

This report provides an overview of the meeting including presentations highlights, key findings and next steps.

---

[1] http://www.hc-sc.gc.ca/english/protection/royalsociety/index.htm

2. WELCOME AND OPENING REMARKS

Karen Dodds, PhD, Director General, Food Directorate, Health Canada

Dr. Dodds welcomed the participants and outlined their role in identifying and prioritizing research needs in the various areas as well as identifying possible partnership opportunities.

She noted that the workshop session would focus on the scientific elements of the action plan and, more specifically on those elements related to human health and safety. She also indicated her wish for this session to be a day of exploration and information sharing, having as the primary objectives to encourage the understanding of the science as well as collaboration building among experts in different yet complementary fields.

3. PRESENTATIONS

3.1 Overview of the Codex Guidelines for the Conduct of Food Safety Assessment of Foods Derived from rDNA Plants

Paul Mayers, Acting Associate Director General, Food Directorate, Health Canada

Mr. Mayers provided an update on the work of the Codex Ad Hoc Intergovernmental Task Force on Foods Derived from Biotechnology and an overview of the Guidelines for the Conduct of Food Safety Assessment of Foods Derived from recombinant DNA (rDNA) Plants recently adopted by the Task Force. These guidelines are available on the Codex Alimentarius website at www.codexalimentarius.net.

3.2 Molecular Characterization: Key Consideration in the Safety Assessment of Novel Foods

William Yan, PhD, Chief, Evaluation Division, Bureau of Microbial Hazards, Food Directorate, Health Canada

Dr. Yan described the data requirements with regards to the molecular characterization component of the safety assessment of foods derived from biotechnology. The potential benefits of profiling techniques (genomics, proteomics, etc.) were discussed, noting however, that these new methodologies needed first to be further developed and validated before they can be applied to the assessment of novel foods. Further information is available on the Food Directorate website at www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/ under the heading "Novel Food".

Dr. Yan also discussed the use of marker genes, including the concerns of the public regarding the use of antibiotic-resistance genes. He noted that alternative transformation technologies that do not result in the presence of antibiotic resistance genes in foods are recommended for the development of future products.

3.3 DNA microarray technology: applications and uses

Franco Pagotto, PhD, Research Scientist, Bureau of Microbial Hazards, Food Directorate, Health Canada

Dr. Pagotto provided an overview of the research that is currently underway within Health Canada in collaboration with other federal regulatory agencies to develop detection and identification procedures for genetically modified organisms (GMO) based on DNA chip technology. The researchers are also evaluating and optimizing such systems for the analysis of GMO in processed foods, food ingredients and related samples. Please refer to Appendix I for further details.

3.4 Toxicology and Allergenicity - Overview of Current and Future Research

Rekha Mehta, PhD, Acting Chief, Toxicology Research Division, Bureau of Chemical Safety, Food Directorate, Health Canada

Dr. Mehta brought to the forefront the challenges and current research in the field of allergenicity, including the conclusions from the Health Canada Workshop on Animal Models to Detect Allergenicity to Foods and GM-Products. She also provided an overview of the issues and ongoing research related to toxicological testing, including the issue of whole food testing. Please refer to Appendix II and III for further details.

3.5 Dietary Phytoestrogens: Safety, Nutritional Quality and Health Considerations

Ghulam Sarwar Gilani, PhD, Senior Research Scientist, Bureau of Nutritional Sciences, Food Directorate, Health Canada

Dr. Gilani reviewed the ongoing research into the possible health benefits and potential adverse effects of dietary phytoestrogens. Data from two rat studies (a 16-week study with Sprague-Dawley rats and a life span study with Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive rats) conducted in Health Canada laboratories to assess safety of soy isoflavones were presented. He also provided participants with an overview of the planned research related to the safety assessment of dietary phytoestrogens. Please refer to Appendix IV for further details.

3.6 Update on the Biotechnology Surveillance Project

Rita Beregszaszy, Project Manager, Centre for Surveillance Coordination, Health Canada

Ms. Beregszaszy provided a brief update on Health Canada's Biotechnology Surveillance Project, specifically detailing the activities regarding post-market surveillance of GM-foods. Additional information on this project is available on Health Canada's website at http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dgspsp/csc-ccs/biotech_e.html.

She also mentioned the International Conference on Post-Market Surveillance of Genetically Modified Foods that will be sponsored by Health Canada's Centre for Surveillance Coordination. The purpose of this conference is to discuss the technical issues, challenges and opportunities in the area of post-market surveillance of genetically modified foods. This workshop will be held in Ottawa in October 2002. Information on the conference is available at http://www.gmfoodsurveillance.org.

4. BREAKOUT GROUP DISCUSSIONS

4.1 Molecular Characterization

The top research need identified by the participants in this field was the development of gene expression baseline data for plants. The establishment of the range of expression inherent to any given crop will enable a more precise determination of the extent of the changes following the expression of the transgene(s) in genetically modified lines. It was suggested that obtaining this type of data for the major agricultural crops would be a good starting point. In order to obtain this data, participants generally agreed that tools (eg. bioinformatics), methodologies and networks as well as international standards for their application, need to be developed further.

Generally, participants agreed that the approach should be to target specific hazards and work back from there. They also noted that research is required to expand the use and development of molecular tools for post-market surveillance.

4.2 Allergenicity Considerations

Participants agreed that there are many areas related to the determination of possible allergenicity that required further research. One such area was the development of real-time rapid assay techniques for the detection and prediction of all allergens (other than the top 8) in whole foods or food ingredients. The group also acknowledged that a better understanding of the biochemical characteristics of proteins would help in determining their capability to elicit an allergic response. This characterization is required for both allergenic and non-allergenic proteins in order to further our understanding of allergenicity triggers and enable us to distinguish between them.

Furthermore, the participants identified the need for the development of targeted and specific serum screening methods, including the development of serum banks. They also noted that a better understanding of the dose threshold for an allergic reaction as well as the threshold for sensitization is required.

The participants also emphasized that the development of validated techniques and animal models would be beneficial. However, they concluded by stating that although further research is required in many areas a lot of work is currently being undertaken internationally to address many of these issues.

4.3 Toxicological Considerations

Participants addressed the questions of acute versus chronic toxicological effects and generally agreed that both of these must be considered in the assessment of the safety of novel foods. However, research should focus on the chronic effects in order to address the knowledge gaps in this area. Thus far, the focus has been on the acute effects since the changes in the food products that have been introduced to date have been relatively simple, however some future products are

expected to be more complex.

To address the toxicological requirements for these future products, participants suggested the use of a knowledge-based tiered approach. This would require the establishment of baseline data for non-GM-products in order to identify any altered levels in a GM-product which are outside the range of natural variation, whether this change is intended or unintended. If the level of exposure is outside the normal range, depending on the compound in question and its potential exposure to humans, the level of toxicological testing that would be required could be determined. This approach would also require the development of standardized methods.

Participants also identified the need to develop more sensitive and validated biomarkers for the evaluation of possible reproductive effects, immunotoxicity, carcinogenicity and neurotoxicity. It was also acknowledged that there are studies and information that exist, such as animal models that are currently used for the assessment of nutritional considerations, that may be applied to the toxicological safety assessment. These methods may also lead to the creation of standardized testing and could aid in the development of protocols for whole food testing. It was also suggested that toxicologists and regulators from the pharmaceutical and agricultural-chemical industry might have information about biomarkers that may be applied to foods. The group also proposed that data from certain known toxic chemicals could be used as endpoints for testing novel foods.

4.4 Nutritional Considerations

The group discussed the need for standardized methods for nutrition testing in animals as well as standardized bioactive components for anti-nutrient testing for those crop species (e.g. broccoli and papaya) where animal models do not exist. One of the issues raised was the need to define which components must be evaluated when reference is made to a comprehensive assessment of nutrient composition and bioactive components.

Participants identified the need for the creation of a reference database for baseline nutrient composition that would indicate the level of natural variation. The need for dietary intake data that reflects the food habits of Canadians was also expressed. The purpose of this data would be to determine the usual levels and patterns of consumption of particular foods and food groups by Canadians, and possibly the exposure to genetically modified foods or potential contaminants / toxins in foods.

Generally, the group agreed that the nutritional assessment must take into account the nature of the modification of the product as well as the potential risks associated with these changes. They stated that the ability to assess the impact of the nutritional change of new products is complicated by the need for comprehensive testing, including genetic, animal, human and population considerations.

4.5 Post-Market Surveillance

The group identified the need to assess the cumulative effect of exposure to GM-foods, however a mechanism must be developed to identify adverse reactions to relate these effects to GM-foods. Research is also required on the food consumption pattern and dietary intake of GM-foods. Furthermore, baseline data showing what Canadians are eating must be established in order to test the hypotheses. Some participants questioned the use of the term "baseline" since the population has been exposed to GM-foods for some time.

To address these issues, the participants identified the need to examine food consumption patterns to determine the dietary intake of GM-foods and to relate the outcomes to the exposure. It was also noted that in order to implement the long-term surveillance of GM-foods the current research gaps must be addressed (i.e., gathering baseline data and other pre-market assessment research needs identified in other breakout group discussions, etc.) as well as the establishment of reporting mechanisms and standardized evaluation protocols. However, it was observed that many opportunities for collaboration with academia exist. Also, there are surveillance approaches developed for other commodities whose methodologies could be extended to GM-foods.

The International Conference on Post-Market Surveillance of Genetically Modified Foods, sponsored by Health Canada, will provide an opportunity to explore and discuss the technical issues, challenges and opportunities surrounding this issue (Ottawa, October 16 -17, 2002).

5. NEXT STEPS AND CONCLUDING REMARKS

In each of the topics discussed, next steps were identified to further the research in the area of GM-foods (refer to the summary table below). One of the common needs identified to many of the areas, was the development of baseline data. This was recognized as an opportunity for collaboration with academia as there are many research projects that are either planned or underway. The need for international standards for methods and protocols in many fields was also observed. This work must be done in collaboration at an international level, therefore the government will ask the OECD Task Force on Novel Foods and Feeds to explore the need for whole food testing protocols for toxicological and nutritional endpoints.

The molecular characterization of genetically modified foods is a field in which additional tools are still being developed. The need for baseline data was identified as a major gap and the establishment of baseline data for major agricultural crops such as corn was suggested as a first step.

In the field of allergenicity, most of the work is currently being undertaken at an international level. A gap analysis is however required before assessing where Canadian research efforts should be focussed. Regarding to the development of serum banks, International Life Science Institute (ILSI) is examining this issue and opportunities for collaboration with them will be explored.

The group discussing toxicological considerations proposed that the existing knowledge (e.g., animal models for nutritional assessment) should be reviewed by an expert committee in order to develop standardized testing methods. This could then potentially lead to the development of whole food testing protocols. The Canadian Agri-Food Research Council (CARC) and/or the Society of Toxicology Canada were suggested as possible fora for such a committee which would include academia, industry, government and other experts.

With regard to research needs in the field of nutrition, Health Canada was identified as the possible lead for a survey on dietary intake and consumption data. Health Canada was also encouraged to collaborate with academia, industry and related groups such as National Institute of Nutrition (NIN) to meet the needs identified during the discussions.

The group discussing the topic of post-market surveillance concluded that even though Health Canada and Environment Canada both have projects underway, a larger scale study on potential health effects of GM-foods should be undertaken in collaboration with the scientific community. It was also noted that there are many existing studies that may contain relevant data or methodologies that could be applied to the surveillance of GM-foods.

Paul Mayers addressed the group and thanked them for their participation. He noted that as a first step, Health Canada would review the outcomes of the discussions and explore through CARC, the opportunities for developing a strategy to encourage further collaboration between governmental and non-governmental experts to move forward on the issues identified.

Table 1. Summary of the Needs Identified in the Different Breakout Groups

Molecular Characterization	*Allergenicity*	*Toxicology*	*Nutrition*	*Post-Market Surveillance*
Development of gene expression baseline data for major crops	Development of real-time rapid assays for assessment and detection of allergens	Development of baseline data for non-GM-products (i.e. data on the range of natural variation)	Creation of a reference database for baseline nutrient composition	Collection of data on food consumption patterns and dietary intake habits of Canadians to establish exposure to GM-foods
Further development of tools (eg. bioinformatics), methodologies and networks to obtain baseline data	Development of serum banks to be used to evaluate potential allergenicity of proteins	Development of standardized toxicological tests	Development of standardized methods for nutritional testing in animals	Establishment of reporting mechanisms for adverse effects
Development of international standard techniques for the application of these tools and methodologies	Development of targeted and specific serum screening methods to assess potential allergenicity of proteins	Development and validation of sensitive biomarkers for the evaluation of possible reproductive effects, immunotoxicity, carcinogenicity and neurotoxicity of new substances	Defining the nutrients and bioactive components to be examined for various crop species	Development of standardized protocols for assessment of reported adverse effects
Expanding the use and development of molecular testing methods for post-market surveillance	Characterization of sensitization threshold and allergic reaction threshold	Evaluation of methods used in other fields, such as animal models used in nutrition research, for its potential application in toxicology studies	Collection of data on food consumption patterns and dietary intake habits of Canadians to establish exposure to GM-foods	
	Development of animal models to assess potential allergenicity of proteins	Collection of information on biomarkers used in the pharmaceutical and ag-chemical sectors for potential application to foods		

6. EVALUATION

WHAT WENT WELL

- Facilitators were good (5)
- The presentations before the breakout sessions were focused, covered the appropriate information and helped the participants become familiarized with the different areas of research (4)
- Wide-ranging and informed discussions (4)
- Nice location/facilities (3)
- Organized (3)
- The breakout groups were well organized and a great deal of good constructive discussions went on (2)
- Good representation and participation from industry, university and government (2)
- Pointed out research gaps effectively (2)
- Good selection of experts (2)
- Format was conductive to exchange of ideas in an organized fashion
- Everybody had a chance to speak his or her mind
- Everyone was committed to the improvement of the science
- Everyone was polite and considerate
- Good overview of initiatives
- Brief introductory talks
- Free parking

WHAT COULD BE BETTER

- Materials and supportive websites should have been provided to participants prior to the meeting (4)
- The time frame was too short; there was not enough time to tackle the complex problems (4)
- Will there be actions taken after this exchange of ideas? (2)
- Need to assign responsibility (2)
- Greater representation from academia to understand the current state of the research (2)
- The discussion groups on toxicology/allergenicity in the afternoon needed to be smaller
- The government should provide leadership in resourcing the research needed to close the gaps
- The sessions should have focused on pre-written issues
- Intent of post-market surveillance or objectives
- Ability to define negative outcomes against a background of ever changing dietary habits without full appreciation of background intakes
- Implementation of standardized whole food testing
- Establish matrix on follow-up items
- Not a lot of true experts in a specific area except those from Health Canada
- It seems that this has been done before and few really concrete conclusions arise
- This should have been done earlier (i.e. before the introduction of GM-foods in our food supply)
- What about the environmental assessment portion of the issue of GM-foods?
- Don't loose the momentum created at this meeting
- Provide report as soon as possible

7. List of Participants

James D. Astwood, Ph.D.
BIOTECanada
Director, Product Safety Center
Monsanto Company
800 North Lindbergh Blvd
St. Louis, MO 63167
USA
Tel: (314) 694-8396 Fax: (314) 694-8562
james.d.astwood@monsanto.com

Roy Atkinson
Executive Director
Industry Canada
Canadian Biotechnology Secretariat
235 Queen St.
Ottawa, ON K1A 0K5
Canada
Tel: (613) 946-8926 Fax: (613) 941-5533
atkinson_roy@biotech.gc.ca

Reem Barakat
Feed Section
Canadian Food Inspection Agency
59 Camelot Drive
Ottawa, ON K1A 0Y9
Tel: (613) 225-2342 Fax: (613) 228-6614
barakatr@inspection.gc.ca

Samuel Ben-Rejeb, Ph.D.
Research Scientist
Health Canada, Food Research Division
3rd floor, Sir Federick G Banting Building
Tunney's Pasture
Ottawa, ON K1A 0L2
Tel: (613) 952-5885 Fax: (613) 941-4775
samuel_ben-rejeb@hc-sc.gc.ca

Rita Beregszaszy
Project Manager
Health Canada,
Centre for Surveillance Coordination
3rd floor, 130 Colonnade Road
Ottawa, ON K1A 0K9
Tel: (613) 957-8450 Fax: (613) 952-3196
rita_beregszaszy@hc-sc.gc.ca

Luc Bourbonnière
Scientific Evaluator
Health Canada, Evaluation Division
4th floor, Sir Federick G Banting Building
Tunney's Pasture
Ottawa, ON K1A 0L2
Tel: (613) 946-1318 Fax: (613) 941-8849
luc_bourbonniere@hc-sc.gc.ca

Conrad G. Brunk, Ph.D.
Professor of Philosophy
Conrad Grebel University College
University of Waterloo
Sabbatical Address:
17-5187 Cordova Bay Road
Victoria, BC V8Y 2K7
Tel: (250) 727-2000
cbrunk@uwaterloo.ca

Renée Carrière
Regulatory Officer
Health Canada, Bureau of Food Policy
Integration
Basement, Building #7
Tunney's Pasture
Ottawa, ON K1A 0L2
Tel: (613) 941-8219 Fax: (613) 946-4590
renee_carriere@hc-sc.gc.ca

Lina Castelluzzo
Scientific Evaluator
Health Canada, Nutrition Evaluation Division
3rd floor, Sir Federick G Banting Building
Tunney's Pasture
Ottawa, ON K1A 0L2
Tel: (613) 957-0940 Fax: (613) 941-6636
lina_castelluzzo@hc-sc.gc.ca

Pierre Charest, Ph.D.
Director General
Health Canada, Office of Biotechnology and Science
1st floor, Building #7
Tunney's Pasture
Ottawa, ON K1A 0L2
Tel: (613) 946-1613 Fax: (613) 957-0362
pierre_charest@hc-sc.gc.ca

Stacy Charlton
CropLife Canada
21 Four Seasons Place, Suite 627
Etobicoke, ON M9B 6J8
Tel: (416) 622-9771 Fax: (416) 622-6764

Karen Dodds, Ph.D.
Director General
Health Canada, Food Directorate
1st floor, Building #7
Tunney's Pasture
Ottawa, ON K1A 0L2
Tel: (613) 957-1821 Fax: (613) 957-1784
karen_dodds@hc-sc.gc.ca

Dr. Gavin Downing
Executive Director
Salmon Health Consortium
907-75 Albert St.
Ottawa, ON K1P 5E7
Tel: (613) 239-0612 Fax: (613) 239-0619
salmon_@aquaculture.ca

Brian E. Ellis, Ph.D.
Associate Director
UBC Biotechnology Laboratory
Professor, UBC Biotechnology Laboratory
Faculty of Agricultural Sciences
Suite 231-2357 Main Mall
University of British Columbia
Vancouver, BC V6T 1Z4
Tel: (604) 822-3451 Fax: (604) 822-8640
bee@interchange.ubc.ca

Jeffrey Farber, Ph.D.
Director
Health Canada, Bureau of Microbial Hazards
3rd floor, Sir Federick G Banting Building
Tunney's Pasture
Ottawa, ON K1A 0L2
Tel: (613) 957-0880 Fax: (613) 954-1198
jeffrey_farber@hc-sc.gc.ca

Peter Fischer, Ph.D.
Chief
Health Canada, Nutrition Research Division
3rd floor, Sir Federick G Banting Building
Tunney's Pasture
Ottawa, ON K1A 0L2
Tel: (613) 957-0919 Fax: (613) 941-6182
peter_fischer@hc-sc.gc.ca

Marc Fortin, Ph.D.
William Dawson Scholar
Associate Professor and Chair
Department of Plant Science
McGill University
21, 111 Lakeshore
Ste-Anne-de-Bellevue, QC H9X 3V9
Tel: (514) 398-7851 ext.8384
Fax: (514) 398-7897
marc.fortin@mcgill.ca

G. Sarwar Gilani, Ph.D.
Sr Research Scientist
Health Canada, Nutrition Research Division
3rd floor, Sir Federick G Banting Building
Tunney's Pasture
Ottawa, ON K1A 0L2
Tel: (613) 957-0933 Fax: (613) 941-6182
Sarwar_Gilani@hc-sc.gc.ca

Roger Gould
Food Processors of Canada
1600 Scott Street, Suite 415
Ottawa, ON K1Y 4N7
Tel: (613) 722-1000 Fax: (613) 722-1404
gould@zeuter.com

Jason J. Hlywka, Ph.D.
Senior Scientist
Cantox Health Sciences International
2233 Argentia Road, Suite 308
Mississauga, ON L5N 2X7
Tel: (905) 542-2900 ext.287
Fax: (905) 542-1011
jhlywka@cantox.com

Larry Holbrook, Ph.D.
BIOTECanada
Research Scientist
SemBioSys Genetics Inc.
110 2985 - 23 Avenue N.E.
Calgary, AB T1Y 7L3
Tel : (403) 250-5424 ext.30
Fax : (403) 250-3886
holbrook1@sembiosys.ca

Natalie Hubbard
CropLife Canada
21 Four Seasons Place, Suite 627
Etobicoke, ON M9B 6J8
Tel: (416) 622-9771
Fax: (416) 622-6764

Johanna Jennings
Scientific Evaluator
Health Canada, Bureau of Microbial Hazards
4th floor, Sir Federick G Banting Building
Tunney's Pasture
Ottawa, ON K1A 0L2
Tel: (613) 946-1317 Fax: (613) 952-6400
johanna_jennings@hc-sc.gc.ca

Xiaoyan Jia, Ph.D.
Laboratory Specialist
Health Canada, Organic Residue Laboratory
2nd Floor, Burnaby Lab
3155 Willingdon Green
Burnaby, BC V5G 4P2
Tel: (604) 666-5584 Fax: (604) 666-3149
xiaoyan_jia@hc-sc.gc.ca

Dr. Rhoda Kagan
Montreal Children's Hospital
2300 Tupper St. Room C-426
Montreal, QC H3H 1P3
Tel: (514) 934-4175 Fax: (514) 934-4311
rhoda.kagan@muhc.mcgill.ca

John J. Kennelly, Ph.D.
Professor and Chair
Department of Agricultural, Food and Nutritional Science
University of Alberta, 410 AgFor Centre
Edmonton, AB T6G 2P5
Tel: (780) 492-2131 Fax: (780) 492-4265
john.kennelly@ualberta.ca

Lois King
Allergy/Asthma Information Association
50 Pleasant Park Rd.
Ottawa, ON K1H 5L8
Tel: (613) 526-3583
loisaking@hotmail.com

Dalia T. Kudirka, Ph.D.
Canadian Agri-Food Research Council

(CARC)
Sir John Carling Bldg., 7th Floor
Ottawa, ON K1A 0C5
Tel: (613) 759-7858 Fax: (613) 759-7769
krdirkad@em.agr.ca

Nora Lee
Scientific Evaluator
Health Canada, Nutrition Evaluation Division
3rd floor, Sir Federick G Banting Building
Tunney's Pasture
Ottawa, ON K1A 0L2
Tel: (613) 957-1740 Fax: (613) 941-6636
nora_lee@hc-sc.gc.ca

Dr. Francois Levac
Médecin - Surveillance en environnement
Régie régionale de la santé et des services sociaux de la Montérégie
1255, rue Beauregard
Longueil, QC J4K 2M3
Tel: (450) 928-6777 ext.4061
Fax: (450) 928-3760
f.levac@rrsss16.gouv.qc.ca

Sue MacIntosh
CropLife Canada
21 Four Seasons Place, Suite 627
Etobicoke, ON M9B 6J8
Tel: (416) 622-9771
Fax: (416) 622-6764

Mary Alton Mackey, Ph.D.
Dietitians of Canada
480 University Avenue,
Suite 604
Toronto, ON M5G 1V2
Tel: (416) 596-0857 Fax: (416) 596-0603
maryaltonmackey@sympatico.ca

Paul Mayers
Acting/ Associate Director General
Health Canada, Food Directorate
1st floor, Building #7
Tunney's Pasture
Ottawa, ON K1A 0L2
Tel: (613) 952-3368 Fax: (613) 957-1784
paul_mayers@hc-sc.gc.ca

Karen McIntyre
Acting Director
Health Canada, Bureau of Food Policy Integration
Basement, Building #7
Tunney's Pasture
Ottawa, ON K1A 0L2
Tel: (613) 946-4822 Fax: (613) 946-4590
karen_mcintyre@hc-sc.gc.ca

Rekha Mehta, Ph.D.
A/Chief
Health Canada, Toxicology Research Division
2nd floor, Sir Federick G Banting Building
Tunney's Pasture
Ottawa, ON K1A 0L2
Tel: (613) 957-0938 Fax: (613) 941-6959
rekha_mehta@hc-sc.gc.ca

Keith Mussar
BIOTECanada
Food and Consumer Products Manufacturers of Canada
885 Don Mills Road, Suite 301
Toronto, ON M3C 1V9
Tel: (905) 542-2082
kmussar@hotmail.com

Franco Pagotto, Ph.D.
Research Scientist
Health Canada, Bureau of Microbial

Hazards
4th floor, Sir Frederick G Banting Building
Tunney's Pasture
Ottawa, ON K1A 0L2
Tel: (613) 957-0895 Fax: (613) 941-0280
franco_pagotto@hc-sc.gc.ca

Mireille Prud'homme
Acting/ Associate Director
Health Canada , Bureau of Food Policy Integration
Basement, Building #7
Tunney's Pasture
Ottawa, ON K1A 0L2
Tel: (613) 946-4594 Fax: (613) 946-4590
mireille_prudhomme@hc-sc.gc.ca

David Rideout
Executive Director
Canadian Aquaculture Industry Alliance
907-75 Albert Street
Ottawa, ON K1P 5E7
Tel: (613) 239-0612ext.1
Fax: (613) 239-0619
rideoutcaia@aquaculture.ca

Erin L. Schock
Senior Project Officer
Health Canada,
Centre for Surveillance Coordination
3rd floor, 130 Colonnade Road
Ottawa, ON K1A 0K9
Tel: (613) 957-0852 Fax: (613) 952-3196
erin l_schock@hc-sc.gc.ca

Irene Strychar, Ph.D.
Canadian Public Health Association
Associate Professor, Nutrition Dept.Faculty of Medicine, Université de Montréal and
Researcher, Centre de Recherche,
Hôpital Notre-Dame du CHUM,
Pavillion Mailloux, Porte M-8215,
1560 Sherbrooke Est
Montréal, QC H2L 4M1
Tel: (514) 890-8000 ext. 28040
or (514) 342-2492 (voice-mail)
Fax: (514) 412-7603
irene.strychar@umontreal.ca

Laura Tagliani
CropLife Canada
Global Leader, Biotech Regulatory Science,
Regulatory Laboratories,
Dow AgroSciences LLC
9330 Zionsville Road
Indianapolis, IN 46268
Tel: (317) 337-3504 Fax (317) 337-3235
latagliani@dow.com

Helen Tryphonas, Ph.D.
Research Scientist, Immunotoxicology
Health Canada, Toxicology Research Division
2nd floor, Sir Frederick G Banting Building
Tunney's Pasture
Ottawa, ON K1A 0L2
Tel: (613) 957-0996 Fax: (613) 941-6959
helen_tryphonas@hc-sc.gc.ca

William Yan, Ph.D.
Chief
Health Canada, Evaluation Division
4th floor, Sir Frederick G Banting Building
Tunney's Pasture
Ottawa, ON K1A 0L2
Tel: (613) 941-5535 Fax: (613) 952-6400
william_yan@hc-sc.gc.ca

APPENDIX I. DNA MICROARRAY TECHNOLOGY: APPLICATIONS AND USES FOR THE HEALTH AND FOOD SAFETY OF GM-FOODS

Franco Pagotto, Ph.D.
Bureau of Microbial Hazards, Food Directorate, Health Canada

Summary:

Foods produced by genetic engineering technology are now appearing on the market and many more are likely to emerge in the future. The detection of GMOs is growing in importance in response to resistance by consumers to products containing ingredients manipulated by recombinant DNA techniques due to concerns with (i) possible health-related issues resulting from the altered biochemical composition of GM-foods, or the inadvertent introduction of allergens; (ii) the control of proprietary GM-products, and (iii) environmental protection issues. Recently, the European Union and many other industrialized nations have announced the implementation of new regulations requiring that foods containing more than 1% GMOs must be clearly identified on the label and there is increasing pressure in North America for governments to adopt regulations on labelling. Such a policy will have dramatic social and economic consequences for the Canadian agri-food sector, which is a major exporter of agricultural commodities implicated in the GMO issue. In Canada, some of the major crops that have been the focus of genetic modifications are corn (Bt, Liberty Link and Roundup Ready), potato (pathogen resistance) , soybean (Roundup Ready) and canola (Liberty Link, Roundup Ready, Bromoxynil tolerance, Male sterility, Restorer, High Laurate). Present methods used for detection of genetic modifications in foods and related samples are time-consuming and labourious. In order to judiciously regulate the labelling of GMO status, novel techniques are required to detect the possible presence of many different genetic events quantitatively.

The lack of validated analytical methods in Canada makes it difficult at present to develop a regulatory testing program for monitoring GMOs in foods. Currently, there are no analytical technologies able to simultaneously detect the large number of targets encountered in GMOs, greatly limiting our current analytical capability. Therefore, the development of the DNA chip technology will provide a valuable tool for the implementation of a comprehensive regulatory program. The aims of the project include (a) to develop comprehensive detection and identification procedures for genetically modified organisms (GMO) based on DNA chip technology and (b) to evaluate and optimize DNA chip-based detection systems for the analysis of GMO in processed foods, food ingredients and related samples, including GM soy, corn, potatoes and canola.

A leading edge technology will be developed to enable such agencies as CFIA and the Agri-food sector to regularly monitor foods and related commodities for the presence of GMOs to meet national and international labelling requirements. There will be improved access of Canada's Agri-food sector to foreign export markets by virtue of the ability to determine the complete GMO status of commodities utilizing this new analytical capability. While there is no proven negative impact on human health associated with approved GMOs in foods, many concerns

persist creating an increasingly negative climate for advancement in this field. The availability of analytical technologies allowing responsible agencies to routinely monitor the GMO status of foods will demonstrate to the public that science and technology is being diligently managed in this country as well as preventing the inadvertent addition of health-threatening components such as allergens to foods.

Microarray (DNA chip) technology has evolved into a feasible technology for application to DNA analysis and features such as small scale, accuracy and speed make it an ideal technology as alternative to PCR for the detection and identification of GMO's in food. Oligonucleotide arrays formed on chip surfaces composed of 12-15 bp DNA fragments can be hybridized with complementary target DNA present in a test sample and visualized quantitatively using a fluorescent dye in a commercially available image analysis system. The proposed project will involve the identification of oligonucleotide sequences for all major events encountered in corn, soy, canola and potatoes, and probes will be synthesized for immobilization in arrays on chip surfaces. Conditions for probe immobilization and subsequent hybridization with target DNA will be optimized. Target DNA (DNA extracts from test samples) will be fragmented by mechanical (ultrasonication), enzymatic (DNAse digestion) or chemical (metal-ligand hydrolysis) means to render fragments of ideal size for efficient interaction with the immobilized probes. Procedures for recovery of DNA from diverse samples, such as seeds, whole crops and finished foods (e.g., corn chips and honey) will be developed. This will include examination of automated DNA extraction technology for simultaneously processing large numbers of samples. The assay format will be refined for the quantitative detection of GMOs in samples, in order to determine the level of GMO in the bulk sample. This will be achieved through consistency in high quality preparation of the DNA arrays as well as exploitation of the array scanner software in performing data analysis. Finally, the optimized assay format will be evaluated in the analysis of a variety of foods, crops and related samples to determine the performance characteristics of the technique (sensitivity, specificity and reproducibility).

The team working on this project include Dr. Jeffrey Farber (Health Canada), Nathalie Corneau (Health Canada), and Dr. Burton W. Blais and Amalia Martinez (Canadian Food Inspection Agency).

APPENDIX II. TOXICOLOGY AND ALLERGENICITY - ISSUES, CHALLENGES, AND CURRENT RESEARCH IN THE FOOD DIRECTORATE

Rekha Mehta, Ph.D.
A/Chief, Toxicology Research Division, Bureau of Chemical Safety, Food Directorate, Health Canada

Issues

Under the Food and Drugs Act, the Food Directorate of Health Canada has the responsibility for safety evaluation of new food products such as those developed through genetic manipulation (genetically modified foods or GMF) or food fortification. In Canada, GMF products undergo comprehensive review by federal departments, and are regulated as "novel foods". The process for safety assessment of novel foods is based upon principles developed through technical stakeholder and expert consultations carried out by the World Health Organization (WHO), the Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, and the Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). Current GMF on the market consist mostly of plants with simple genetic modifications such as addition of one or two traits. However, the next generation of GMF are likely to emerge from both plant and transgenic animal origin, and through modifications of more complex traits and altered chemical and nutritional composition. The recognition of a potential for an increased complexity of future GMF as well as close public and expert scrutiny, has resulted in re-examination of current regulatory guidelines for products of food biotechnology in Canada and worldwide. Thus, Health Canada, Agriculture and Agri-Food Canada, and Environment Canada convened a Royal Society of Canada (RSC) Expert Scientific Panel in December 1999 to provide advice on scientific issues related to safety and human health effects of new GMF. The RSC Expert Panel (2001) made a number of recommendations including:

- refining the assessment of potential allergenicity of GMF ;
- improving the criteria for toxicological testing for GMF ;
- developing and validating of whole food testing protocols for GMF with multiple compostional/nutritional modifications.

Similar recommendations have come through several important reviews of assessment strategies for products of biotechnology conducted by expert groups internationally, for example, the American Medical Association (AMA), the British Royal Society and the US National Academy of Sciences. Health Canada has developed a detailed action plan to address the recommendations of the RSC Expert panel, including an R&D Program which supports research activities to continue to ensure the safety of new food products being developed through biotechnology into the 21st century.

Challenges and Current Research

1. Allergenicity

Until recently, the human health issues for GMF have related specifically to potential allergenicity of the presence of minute amounts of one or several novel proteins expressed by recombinant DNA in GM-food crops, and novel proteins as enzymes used for food processing. The present approach for assessment of potential allergenicity relies on data relating to expression level of the novel protein in the GMF, its stability to processing and digestion in the mammalian gastrointestinal tract, homology of the amino acid sequence with that of known food allergens, and immunochemical binding of the new protein with IgE from the serum of individuals known to be allergic to the source of the transferred gene.

With reference to enhancing allergenicity assessment, activities at Health Canada include participation in FAO/WHO international expert consultations (2000, 2001), and as a lead in the development of an annex on allergenicity for Codex Guidelines on the Safety Assessment of Recombinant-DNA Plants. The FAO/WHO Expert Consultation (2001) recommended a hierarchical approach to allergenicity assessment for GMF, which suggested that animal models, when sufficiently developed and validated, could contribute valuable information to the process of identifying potential sensitization to food proteins. In response to this recommendation, Health Canada scientists organized a 2-day workshop in November 2001 in Ottawa. Several prominent scientists participated in this Workshop to review the current status and further development of animal models of allergenicity, and to discuss the potential applicability of these models in predicting the allergenicity of foods including GMF. The Workshop Proceedings have been submitted for publication in Environmental Health Perspectives (2002, In Press). An Executive Summary of these Proceedings is attached in Appendix III. The Workshop participants concluded that although there is no single animal model that ideally meets the requirements, each of these models has merits which when further validated may contribute to the overall assessment of allergenicity for GM-derived protein products. Alternate methods such as the development of *in vitro* assays to predict functional T-cell epitopes in individuals previously unexposed to proteins of concern were also discussed. The most useful application of this technique may be the development of hypo-allergenic substance variants which would then help reduce the overall allergenic potential of GM-proteins and other novel substances.

2. Toxicology and Whole Food Testing

Current Health Canada regulatory protocols require complete toxicological testing, including pharmaco-kinetic studies, and genotoxicity, carcinogenicity, reproductive and teratology tests if a novel protein or other component in a GMF is present at a level outside a currently established range. Substantial equivalence is a regulatory tool, underpinned by sound science and strongly supported by OECD. It is used as a starting point, and not as a decision threshold, for the assessment process. There are many elements to the evaluation approach, including: (a) phenotypic assessment; (b) compositional analysis for naturally occurring toxins and allergens, and (c) equivalence of protein/gene introduced. In the most recent Joint FAO/WHO expert consultation on Foods derived from Biotechnology (2000), it was concluded that while the "substantial equivalence" concept is a robust framework for the safety assessment, some aspects of the steps in the safety assessment process could be refined to keep abreast of developments in

genetic modification technology. For GM crops with more complex traits where, for example, the purpose is to improve micro-nutrient levels, an extensive toxicological and nutritional assessment of the GM-foods may be required. Another issue regarding the "substantial equivalence" framework is that the comparison of the levels of key nutrients and toxicants in a GM variety with that of a traditional counterpart is limited to the presence of known components. This precludes the identification of unknown components of toxicological significance which might emerge in the modified food.

A key challenge for toxicological testing or the conduct of long-term feeding studies in animals for GM-foods compared to the safety assessment of pharmaceuticals or food additives for example, is that a whole food matrix is a complex mixture of compounds that can be tested only at dose levels that are tolerable for palatability and maintenance of normal growth of the test animal. Such doses may not reach levels that are as high as either the anticipated human exposures or to detect any subtle adverse effects, thus making the data obtained from conventional toxicological tests unreliable for human health risk assessment. Validated study protocols that are biologically and statistically acceptable for the safety assessment of any food as a whole food matrix are currently lacking, and hence, practical difficulties exist in application of conventional toxicological tests as routine safety assessment tools for GM-foods. Therefore, Health Canada as well as international organisations (OECD, FAO/WHO) have recognised a need to support research for the design and development of practical and scientifically sound *in vivo* models for toxicity testing of whole foods.

Health Canada scientists, in collaboration with investigators at the Canadian Food Inspection Agency, Department of Fisheries and Oceans, and Universities of McGill, Manitoba and British Columbia, are addressing this challenge by conducting studies in Sprague Dawley (SD) rats using soy isoflavones as a model class of compounds. Levels of isoflavones may be affected either primarily or secondarily by genetic modifications made to soy products. The effects on metabolism, reproduction, general and neural development, immune system and cancer induction are being assessed. Any potential adverse effects of ingested GM-fish is similarly being determined using a SD rat model. *In vitro* assays, using soy isoflavones and genomic methodologies, are also being developed with gene expression and mutagenic activation / genotoxicity as endpoints. All these studies include analysis of events related to aberrant gene expression using the leading edge molecular diagnostic technologies such as DNA and protein micro-arrays. The rationale for such analysis is to provide opportunities for identification of molecular biomarkers in target cells and tissues of the *in vivo* and *in vitro* model systems that are sensitive and specifically related to clinical or disease outcomes. Development of such biomarker based toxicity testing methods, by virtue of their sensitivity and specificity to detect subtle grades of toxicity, may then provide test models for assessing the safety and nutritional quality of a GMF, either on the whole food, or food constituent or component in question.

References

Royal Society of Canada (2001) "*Elements of Precaution: Recommendations for the Regulation of Food Biotechnology in Canada*", Ottawa.

FAO/WHO. (2000). *Safety Aspects of Genetically Modified Foods of Plant Origin*. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on foods derived from biotechnology, May 19–June 2. Geneva: World Health Organization.

FAO/WHO. (2001) *Evaluation of Allergenicity of Genetically Modified Foods*. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Foods Derived from Biotechnology. Geneva: World Health Organization.

APPENDIX III. HEALTH CANADA WORKSHOP ON ANIMAL MODELS TO DETECT ALLERGENICITY TO FOODS AND GM-PRODUCTS (NOVEMBER 2001, OTTAWA, ONTARIO, CANADA)

Helen Tryphonas[1], George Arvanitakis[2], Elizabeth Vavasour[1] and Genevieve Bondy[1].

Health Products and Food Branch[1], and Healthy Environments and Consumer Safety Branch[2], Health Canada, Ottawa, Ontario Canada K1A 0L2.

EXECUTIVE SUMMARY

Respiratory allergy and allergy to foods continue to be important health issues. There is evidence to indicate that the incidence of food allergy around the world is on the rise. Current estimates indicate that approximately 5% of young children and 1-2% of adults suffer from true food allergy (see Kagan in this Monograph). While a large number of *in vivo* and *in vitro* tests exist for the clinical diagnosis of allergy in humans, there is a lack of validated animal models of allergenicity. This deficiency creates serious problems for regulatory agencies and industry that need to define the potential allergenicity of foods prior to marketing. The emergence of several biotechnologically derived foods and industrial proteins, and their potential to sensitize genetically predisposed populations to develop allergy, has prompted health officials and regulatory agencies around the world to seek approaches and methodologies to screen novel proteins for allergenicity.

One such approach was proposed initially by the International Life Science Institute (ILSI) Allergy and Immunology Institute in collaboration with the International Food Biotechnology Council (IFBC) (Metcalfe et al, 1996) and was subsequently modified by the Food and Agriculture Organization (FAO) and the World Health Organization (WHO) (FAO/WHO, 2001). The FAO/WHO 2001 Decision Tree Approach for the Evaluation of Allergenicity of Genetically Modified Foods recommended a hierarchical approach to safety assessment (reviewed by Metcalfe et al, 1996, Taylor and Hefle, 2001 and FAO/WHO, 2001). One of the recommendations in this approach was that animal models, when sufficiently developed and validated, could contribute valuable information to the process of identifying potential sensitization to food protein. Based on this recommendation, Health Canada undertook to organize a 2-day Workshop held in Ottawa in November 13-14, 2001. Several prominent research scientists, currently developing animal models of allergenicity convened to a) review the current status of such models, b) identify areas which need further development and c) discuss the role these models may play in predicting the allergenic potential of foods including the genetically modified food products. Data were presented on several murine and non-murine animal models currently under development. In addition emerging approaches including the identification of antigenic epitopes on human allergens using the HLA transgenic mouce and a human dendritic cell-based method to identify CD4+ T cell epitopes in potential protein allergens were presented. This monograph consists of selected papers which are relevant to the

development of animal models. A summary of key issues discussed at this workshop follows.

Animal models presently under development include the Brown Norway rat, the BALB/c mouse and a transgenic mouse strain engineered to produce class II human leukocyte antigen (HLA) molecules. The potential to sensitize BALB/c mice systemically via intraperitoneal injections of proteins has been explored in a series of experiments detailed by Kimber and Dearman (see paper in this monograph). This approach favors the initiation of vigorous humoral immune responses of the IgG and IgE class and could be a useful model to screen novel proteins for their allergenic potential. The Brown Norway (BN) rat is a high immunoglobulin (particularly IgE) responder rat strain. In some ways the Brown Norway rat resembles atopic humans in their genetic predisposition to develop allergies. Preliminary experiments whereby ovalbumin was used as the sensitizing antigen, demonstrated that the BN rat is a promising species for the development of an oral sensitization animal model. Furthermore, using immunoblotting experiments it was demonstrated that sera from BN rats which were sensitized orally with hen's egg white (HEW) and cow's milk (CM) and sera of allergic patients to hen's egg white or cow's milk recognized a comparable profile of allergens in these allergenic food products. This indicates that the specific protein recognition of induced antibodies in the BN rat is comparable to that observed in sera from allergic patients (detailed by Knippels et al. in this monograph).

In addition to their usefulness in systemic sensitization research, the BN rat and the BALB/c mouse models exhibit many of the characteristics of allergic asthma observed in humans i.e. immediate bronchial hyperresponsiveness and increased levels of IgE antibodies in serum and bronchoalveolar lavage fluid upon exposure to respiratory allergens such as dust mite allergens and molds. One present limitation of these models is that, although many asthma symptoms are exhibited, the animals do not go on to develop chronic respiratory disease, as is the case with human asthma. Eventually the rodents become tolerant to the allergen. A number of possibilities are being explored to overcome this limitation, such as circumventing the potential for tolerance by exposing the animals when very young.

The HLA class II transgenic mouse was shown to be an excellent model for studying the genetic and molecular basis of allergic hyperresponsiveness because, like humans, this mouse strain develops pulmonary eosinophilia, lung tissue damage, and airway hyperreactivity upon exposure to allergens. This was demonstrated by exposing the animals to extracts of short and giant ragweed. T-cell epitopes were identified and HLA haplotype DQ transgenic mice exhibited strong T-cell responses to short ragweed extracts. It was shown that only the HLA-DQ mice exhibited these responses, indicating that a response-specificity exists for different HLA molecules. It was also shown that this response was mediated by CD4+ T-cells. This model holds promise for identifying epitopes critical in eliciting allergic responses as well as for the development of potential immunotherapies (see paper in this monograph by Chapoval and Chella).

A functional *in vitro* assay that predicts T-cell responses to peptide epitopes in humans was also presented (see paper by Stickler et al., in this monograph). It was specifically developed to predict functional T-cell epitopes in individuals who had not been previously exposed to the

protein in question. For the purposes of the allergenic assessment of GM-proteins, this is a very important consideration since previous human exposure to most novel recombinant proteins has obviously never occurred. Determining the T-cell epitopes of potentially allergenic substances may also aid in developing variants which may be hypo-allergenic, thus reducing the overall allergenic potential of GM-proteins and other novel substances.

Although there are practical considerations which make rodents the model of choice for many labs, several non-rodent models have proven useful in evaluating food allergenicity. The swine model and the atopic dog model were described at the workshop. The advantage of both models is in their propensity to develop clinical symptoms of food allergy, primarily gastrointestinal and dermatological reactions, after the sensitized animal is challenged with food antigens. In contrast, clinical responses to food allergens in rodent models are not as reminiscent of human responses.

Swine are frequently used in research as a surrogate for humans. Developing piglets have anatomic and nutritional similarities to developing humans, including a tendency to become either sensitive or tolerant to soy and cow's milk proteins. In the swine model of food allergenicity, newborn piglets are sensitized to peanut protein by intraperitoneal injection of peanut extract plus the adjuvant cholera, followed by two subsequent booster injections 18 and 25 days later. Oral challenge of sensitized piglets results in gastrointestinal and dermatologic symptoms which can be measured using direct skin testing to elicit wheal and flare reactions or by assessing changes in gut morphology including edema and hemorrhage. A limitation of this model, which will undoubtedly be overcome in the near future, is the lack of antibodies specific for swine IgE. As a result the presence of food antigen-specific IgE in sensitized animals has not yet been confirmed.

Food allergy is relatively common in dogs, affecting about 8% of the canine population. The atopic dog model is based on an inbred colony of high IgE-producing dogs. This model has the advantage that gastrointestinal and dermatologic responses to food allergen challenge in sensitized animals have been correlated with increased circulating antigen-specific IgE. To elicit sensitization, dogs are immunized with live virus vaccine, followed by several subcutaneous injections with food antigens over a course of weeks. At this point the dogs produce antigen-specific IgE, respond with wheal and flare reactions in skin tests, and show signs of gastrointestinal edema and inflammation. The applicability of the atopic dog model has been proven in a study of the potential allergenicity of a genetically modified corn line. Both transgenic and non-transgenic corn leaf extracts were found to be essentially non-allergenic compared to common food allergens in pups sensitized from birth with either of the two leaf protein extracts and with common food allergens such as peanut, soy and cow's milk. These data indicate that non-rodent models should not be overlooked as a source of valuable data on the potential allergenicity of genetically modified foods.

In summary, a number of rodent and non-rodent animal models of respiratory and systemic sensitization with allergens are currently been evaluated for their potential to predict allergenicity to food, plant and animal substances. While there is presently no single animal

model which meets the requirements for an ideal animal model, each of these models have merits which, when further validated, can contribute significantly to the overall assessment of allergenicity to several substances including the GM-derived protein products. The development of *in vitro* assays to predict functional T-cell epitopes in individuals who had not been previously exposed to the culprit proteins can be a very powerful tool in the study of allergenicity to substances. Perhaps the most useful application of this novel technique would be the development of hypo-allergenic substance variants. This would help reduce the overall allergenic potential of GM-proteins and other novel substances.

References

1. Metcalfe DD, Astwood JD, Townsend R, Sampson HA, Taylor SL, Fuchs RL. (1996). Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered crop plants. *Crit Rev Food Sci Nutr* 36(S: S165-S186.

2. FAO/WHO. 2001. Evaluation of Allergenicity of Genetically Modified Foods. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Foods Derived from Biotechnology.

3. Taylor SL. (1997). Food from genetically modified organisms and potential for food allergy. *Env Toxicol Pharmacol* 4: 121-126.

APPENDIX IV. DIETARY PHYTOESTROGENS; SAFETY, NUTRITIONAL QUALITY AND HEALTH CONSIDERATIONS

G. Sarwar Gilani, Ph.D.
Nutrition Research Division, Food Directorate, Health Canada

Possible health benefits and potential adverse effects of dietary phytoestrogens will be briefly reviewed. Data from two rat studies (a 16-week study with Sprague-Dawley rats and a life span study with Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive rats) conducted at Health Canada laboratories to assess safety of soy isoflavones will be presented. Moreover, future planned research related to safety assessment of dietary phytoestrogens will be highlighted.

Study in Sprague-Dawley Rats:

In a 16-week study with weanling rats, the effects of the addition of graded levels (0, 50, 100, 200 and 400 mg/kg diet) of soybean isoflavones to a casein control diet on growth, plasma total cholesterol, plasma isoflavones and length of estrus cycle were investigated. An isoflavone-rich extract (Novasoy) and a soy infant formula were used as a source of dietary isoflavones. According to the initial analyses, there was a dose-related increase in the levels of plasma isoflavones. The plasma data showed that the absorption of isoflavones from soy formula was lower than that from Novasoy. There was also a dose-related increase in the length of the estrus cycle in female rats. The cycle in rats fed the formula diet was, however, shorter than that in those fed the Novasoy diet providing the same amount of isoflavones. This suggested differences in the potency based on the source of isoflavones.

Study in Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive rats:

In recent studies the life span of Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive (SHRSP) rats, one of the most suitable animal models for stroke in humans, was altered by the percentage of dietary protein. Death due to stroke occurred significantly earlier in animals fed 10% protein casein diet compared to those fed 20 and 40% protein casein diets. This study was conducted to examine whether source of dietary protein (casein v. soybean protein isolate, alcohol washed to remove most isoflavones), type of supplemental sulfur amino acid (methionine v. cystine), dietary isoflavones and anthocyanins modulate the life span of SHRSP rats. Body weight and systolic blood-pressure matched groups of 47 day-old SHRSP rats received semi-purified diets containing 200 g/kg protein (casein or soybean) supplemented with methionine or cystine (3 g/kg), 0 or 500 mg/kg isoflavones (from Novasoy), and 0 or 500 mg/kg anthocyanins (extracted from grapes). All the experimental diets also contained 10% soybean oil and required levels of other nutrients. A 0.5% sodium chloride solution was used as drinking water to induce hypertension. After consuming the diets for 37 days, ten animals from each dietary group were killed for the collection of blood and tissues for biochemical analyses which are currently underway. The death rates of rats fed the casein and soybean protein diets were not different. Death due to stroke was significantly earlier ($P < 0.0001$) in the animals fed cystine-supplemented diets compared to those fed methionine-supplemented diets. Addition of

isoflavones or anthocyanins had a significant negative effect ($P < 0.023$, $P < 0.016$) on the survival rates of rats.

Future Planned Research (2002-2003):

1. Development of improved HPLC-mass spectrometry methods for the analysis (concentration and composition) of isoflavones in biological fluids and tissues.

2. Analyses of tissues from the 16-week rat study and from the Health Canada multi-generation study to suggest upper safe limits of dietary isoflavones.

3. Further assessment of the source (endogenous vs. extracted) of isoflavones on their bioavailability and bioactivity.

4. Influence of dietary proteins (varying in isoflavones and methionine) on the incidence of stroke in SHRSP rats.

APPENDIX V. TECHNICAL DISCUSSION PROGRAMME

PROGRAMME

Tuesday April 30, 2002 (8:00 - 5:00)
Chateau Cartier Resort
Gatineau, Quebec

Introduction

In November 2001, the Government of Canada published an action plan in response to the Expert Scientific Panel of the Royal Society of Canada report entitled: *Elements of Precaution: Recommendations for the Regulation of Food Biotechnology in Canada*. The action plan describes specific actions and projects that departments intend to carry out in response to the Expert Panel's recommendations. In this action plan, departments also commit to collaborate with external experts to further enhance many areas of the regulatory process and protocols. To encourage further technical dialogue and advancement of the technical knowledge in areas related to the regulation of GM-foods, Health Canada is holding a technical discussion focussed on the health and safety aspects of the action plan.

The objective of this meeting will be to seek input on how to further develop the projects identified in the action plan dealing with the health and safety of GM-foods, as well as identify new activities to be initiated, ensuring the continued technical contributions and collaboration of external experts with the Government of Canada.

8:00 **Registration** (50 min.)

8:50 **Welcome and Opening Remarks** (10 min.)
Dr. Karen Dodds, Director General, Food Directorate, Health Canada

9:00 **Overview of Codex Guidelines for the Safety Assessment of Recombinant-DNA Plants** (10 min.)
Mr. Paul Mayers, Acting Associate Director General, Food Directorate, Health Canada

Health Canada's Initiatives Regarding the Health and Safety Aspects of the Action Plan

Presentations:

9:10 **Molecular Characterization Used in the Safety Assessment of Novel Foods**
Dr. William Yan, Chef, Evaluation Division, Bureau of Microbial Hazards

9:25 **DNA Microarray Technology: Applications and Uses in the GM-Area**
Dr. Franco Pagotto, Research Scientist, Bureau of Microbial Hazards

9:40 **Toxicology and Allergenicity - Overview of Current and Future Research**
Dr. Rekha Mehta, A/Chief, Toxicology Research Division, Bureau of Chemical Safety

9:55 **Dietary Phytoestrogens: Safety, Nutritional Quality & Health Considerations**
Dr. Ghulam Sarwar Gilani, Senior Research Scientist, Bureau of Nutritional Sciences

10:10 **Update on the Biotechnology Surveillance Project**
Rita Beregszaszy, Project Manager, Centre for Surveillance Coordination

10:15 **Health Break** (15 min.)

10:30 **Breakout Session A** (2h)
Participants may attend one of the following breakout groups:
-Molecular Characterization
-Allergenicity
-Nutrition

12:30 **Lunch** (1h)

1:30 **Breakout Session B** (2h)
Participants may attend one of the following breakout groups:
-Allergenicity
-Toxicology
-Long-term surveillance

3:30 **Health Break** (15 min.)

3:45 **Next steps** (1h)

4:45 **Concluding Remarks** (15min.)

SANTÉ CANADA
DIRECTION GÉNÉRALE DES PRODUITS DE
SANTÉ ET DES ALIMENTS
DIRECTION DES ALIMENTS

- RAPPORT FINAL-

JOURNÉE DE DISCUSSION TECHNIQUE SUR LES ASPECTS TOUCHANT LA SANTÉ ET LA SÉCURITÉ HUMAINE CONTENUS DANS LE PLAN D'ACTION DU GOUVERNEMENT DU CANADA

LE MARDI 30 AVRIL 2002
CHÂTEAU CARTIER
GATINEAU (QUÉBEC)

TABLES DES MATIÈRES

1 INTRODUCTION ET CONTEXTE 3

2 MOT DE BIENVENUE ET D'OUVERTURE 4

3 PRÉSENTATIONS 5

3.1 APERÇU DES LIGNES DIRECTRICES DU CODEX RÉGISSANT LA CONDUITE DE L'ÉVALUATION DE LA SÉCURITÉ DES ALIMENTS DÉRIVÉS DES PLANTES À ADN RECOMBINÉ 5

3.2 LA CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE - VOLET IMPORTANT DANS L'ÉVALUATION DE L'INNOCUITÉ DES ALIMENTS NOUVEAUX 5

3.3 TECHNOLOGIE DES PUCES À ADN : APPLICATIONS ET UTILISATIONS DANS LE DOMAINE DES OGM 5

3.4 TOXICOLOGIE ET ALLERGÉNICITÉ - SURVOL DES RECHERCHES EN COURS ET FUTURES 6

3.5 PHYTOESTROGÈNES D'ORIGINE ALIMENTAIRE : QUESTIONS RELATIVES À LA QUALITÉ NUTRITIONNELLE ET À LA SANTÉ 6

3.6 MISE À JOUR SUR LE PROJET DE SURVEILLANCE APRÈS LA MISE EN MARCHÉ 6

4 DISCUSSIONS DE GROUPES 7

4.1 CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE 7

4.2 CONSIDÉRATIONS RELATIVES À L'ALLERGÉNICITÉ 7

4.3 CONSIDÉRATIONS TOXICOLOGIQUES 7

4.4 CONSIDÉRATIONS NUTRITIONNELLES 8

4.5 SURVEILLANCE APRÈS LA MISE EN MARCHÉ 9

5 PROCHAINES ÉTAPES ET MOT DE LA FIN 10

TABLEAU I RÉSUMÉ DES BESOINS EN RECHERCHE IDENTIFIÉS PAR LES DIVERS GROUPES 11

6 ÉVALUATION 13

7 LISTE DES PARTICIPANTS 14

ANNEXES

I TECHNOLOGIE DES PUCES À ADN : APPLICATIONS ET UTILISATIONS POUR LA SANTÉ ET L'INNOCUITÉ DES ALIMENTS GM 20

II TOXICOLOGIE ET ALLERGÉNICITÉ - QUESTIONS, DÉFIS ET RECHERCHE ACTUELLE À LA DIRECTION DES ALIMENTS 22

III ATELIER SUR LES MODÈLES ANIMAUX POUR LA DÉTECTION DE L'ALLERGÉNICITÉ POTENTIELLE DES FUTURS ALIMENTS GM - ORGANISÉ PAR SANTÉ CANADA (NOVEMBRE 2001, OTTAWA (ONTARIO) CANADA) 26

IV PHYTOESTROGÈNES : QUESTIONS RELATIVES À L'INNOCUITÉ, À LA QUALITÉ NUTRITIONNELLE ET À LA SANTÉ 30

V PROGRAMME DE LA JOURNÉE DE DISCUSSION TECHNIQUE 32

1. INTRODUCTION ET CONTEXTE

Le gouvernement du Canada doit s'assurer d'avoir les capacités scientifiques et réglementaires nécessaires pour réglementer efficacement les futurs produits dérivés de la biotechnologie. En novembre 2001, le gouvernement du Canada a publié un plan d'action en réponse au rapport du Comité d'experts de la Société royale du Canada intitulé : *Éléments de précaution : Recommandations pour la réglementation de la biotechnologie alimentaire du Canada*[1]. Ce plan d'action décrit les mesures et les projets que les ministères entendent mettre en oeuvre en réponse aux recommandations du Comité d'experts. Dans ce plan d'action, Santé Canada et d'autres ministères se sont également engagés à collaborer avec la communauté scientifique afin de renforcer les procédures et les protocoles réglementaires.

Conforme à ces engagements, Santé Canada a tenu une journée de discussion technique le 30 avril 2002.

Cette journée visait à :

- recueillir les points de vue de membres de la communauté scientifique sur la façon de peaufiner les projets de recherche en cours à Santé Canada en matière d'innocuité des aliments génétiquement modifiés (aliments GM);
- définir les activités à entreprendre, y compris des projets de collaboration entre la communauté scientifique et le gouvernement.

Le format de cette journée a compris des présentations, des discussions de groupes et des discussions en plénière sur les cinq thèmes suivants : la caractérisation moléculaire, l'allergénicité, la toxicologie, la nutrition et la surveillance après la mise en marché. Lors des discussions de groupes, dans un premier temps, les participants ont été appelés à identifier et prioriser les besoins en recherche dans ces différents champs d'activité. Ils ont ensuite indiqué les besoins pour lesquels des travaux étaient présentement menés par d'autres organisations et, dans la mesure du possible, identifié les possibilités de collaboration futures. Enfin, les participants ont été invités à proposer des mesures à prendre pour adresser les besoins pour lesquels aucun travail n'a encore été entrepris.

Quelque 50 experts provenant du milieu universitaire, d'organisations non gouvernementales, de l'industrie, du Groupe d'experts de la Société royale sur l'avenir de la biotechnologie alimentaire et du Comité consultatif canadien de la biotechnologie ont participé aux discussions.

Le présent rapport a pour objectif de donner un aperçu de la rencontre. Il comprend les résumés des présentations et discussions ainsi que les prochaines étapes qui se sont dégagées lors des échanges.

---

[1] http://www.hc-sc.gc.ca/francais/protection/societeroyale/index.htm

2. MOT DE BIENVENUE ET D'OUVERTURE

Karen Dodds (Ph.D), Directrice générale, Direction des aliments, Santé Canada

Dre Dodds a souhaité la bienvenue aux participants et souligné leur rôle dans l'identification et le classement par ordre de priorité des besoins en recherche dans divers domaines ainsi que dans l'identification de possibilités de collaboration futures.

Elle a indiqué que la journée de discussion mettra l'accent sur les éléments scientifiques du plan d'action et plus précisément, sur les aspects touchant la santé et la sécurité humaine de celui-ci. Elle a également mentionné qu'elle souhaite que cette séance soit propice à l'exploration et aux échanges de points de vue, ayant comme objectifs principaux une meilleure connaissance des enjeux ainsi qu'une collaboration accrue entre experts des différents domaines scientifiques.

3. PRÉSENTATIONS

3.1 Aperçu des lignes directrices du Codex régissant la conduite de l'évaluation de la sécurité des aliments dérivés de plantes à ADN recombiné

Paul Mayers, Directeur général associé intérimaire, Direction des aliments, Santé Canada

M. Paul Mayers a fait une mise à jour sur les travaux du Groupe spécial intergouvernemental du Codex sur les aliments dérivés de la biotechnologie et donné un aperçu de l'approche internationale décrite dans le document intitulé : « *Directives régissant la conduite de l'évaluation de la sécurité des aliments dérivés de plantes à ADN recombiné* » récemment adopté par ce groupe. Ces directives sont disponibles sur le site web de la Commission du Codex Alimentarius (www.codexalimentarius.net).

3.2 La caractérisation moléculaire – volet important dans l'évaluation de l'innocuité des aliments nouveaux

William Yan (Ph.D.), Chef, Division de l'évaluation, Bureau des dangers microbiens, Direction des aliments, Santé Canada

Dr Yan a décrit les exigences concernant la caractérisation moléculaire des aliments issus de la biotechnologie. Il a mentionné les avantages potentiels des nouvelles techniques de définition de profils (génomique, protéomique, etc.) tout en soulignant qu'elles devront d'abord être peaufinées et validées avant de pouvoir être utilisées dans le processus d'évaluation des aliments nouveaux. De plus amples renseignements sur ce volet de l'évaluation de l'innocuité sont disponibles sur le site web de la Direction des aliments à www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/ sous la rubrique « aliments nouveaux ».

Dr Yan a également abordé la question de l'utilisation de marqueurs de sélection, y compris les préoccupations de la population au sujet des gènes de résistances aux antibiotiques. Il a souligné que d'autres technologies de transformation n'entraînant pas la présence de ces derniers dans les aliments sont recommandées pour le développement de produits futurs.

3.3 Technologie des puces à ADN : applications et utilisations dans le domaine des OGM

Franco Pagotto (Ph.D.), Chercheur, Bureau des dangers microbiens, Direction des aliments, Santé Canada

Dr Pagotto a fait un survol de la recherche en cours à Santé Canada et autres organismes fédéraux de réglementation afin d'élaborer des procédures de détection et d'identification des organismes génétiquement modifiés (OGM) fondées sur la technologie des puces à ADN. De tels systèmes sont présentement évalués et optimisés pour l'analyse des OGM dans les aliments transformés, les ingrédients alimentaires et les échantillons connexes. Plus de détails de cette

présentation se trouvent à l'annexe I.

3.4 Toxicologie et allergénicité – Survol des recherches en cours et futures

Rekha Mehta (Ph.D.), Chef intérimaire, Division de la recherche toxicologique, Bureau d'innocuité des produits chimiques, Direction des aliments, Santé Canada

Dre Mehta a mis en avant-plan les défis et recherches en cours dans le domaine de l'allergénicité, y compris les conclusions de l'atelier organisé par Santé Canada sur les modèles animaux pour la détection de l'allergénicité potentielle des futurs aliments GM. Elle a aussi donné un aperçu de la recherche au sein de Santé Canada visant le développement de tests toxicologiques, incluant la difficile question des tests des aliments entiers. Plus de détails de cette présentation se trouvent aux annexes II et III.

3.5 Phytoestrogènes alimentaires : Questions relatives à l'innocuité, à la qualité nutritionnelle et à la santé

Ghulam Sarwar Gilani (Ph.D.), Chercheur principal, Bureau des sciences de la nutrition, Direction des aliments, Santé Canada

Dr Gilani a passé en revue la recherche en cours sur les bienfaits et effets indésirables possibles sur la santé des phytoestrogènes. Il a présenté les données de deux études sur les rats réalisées dans les laboratoires de Santé Canada pour évaluer l'innocuité des isoflavones de soja. La première étude a été effectuée sur des rats Sprague-Dawley pour une durée de 16 semaines. La deuxième consiste en une étude sur une génération de rats hypertendus prédisposés aux accidents cérébraux-vasculaires. Il a également donné un aperçu des recherches prévues relativement à l'évaluation de l'innocuité des phytoestrogènes contenues dans les aliments. Plus de détails de cette présentation se trouvent à l'annexe IV.

3.6 Mise à jour sur le projet de surveillance après la mise en marché

Rita Beregszaszy, Chargée de projet, Centre de coordination de la surveillance, Santé Canada

Mme Beregszaszy a fait une brève mise à jour sur le projet de surveillance de la biotechnologie de Santé Canada portant sur les aliments GM. De plus amples renseignements sur ce projet sont disponibles sur le site web de Santé Canada à l'adresse suivante : http://www.hc-sc.gc.ca/pphb-dgspsp/csc-ccs/biotech_f.html.

Elle a également mentionné la conférence internationale qui aura lieu à Ottawa en octobre 2002. Questions techniques, défis et possibilités associés à la surveillance après la mise sur le marché des aliments GM seront examinés à cette occasion. De plus amples renseignements sur cette conférence sont disponibles à http://www.gmfoodsurveillance.org/.

4. DISCUSSIONS DE GROUPES

4.1 Caractérisation moléculaire

Les participants ont identifié l'obtention de données de référence sur le profil d'expression génomique chez les plantes comme étant le besoin en recherche le plus important du coté de la caractérisation moléculaire. Des données sur la variabilité inhérente de l'expression génique des différentes cultures vivrières faciliteront la détermination de la portée des changements suivant l'expression des gènes introduits dans les lignées transgéniques. Les participants étaient d'avis qu'obtenir ce type de données pour les principales cultures vivrières constituerait un bon point de départ. Ils ont aussi convenu que des outils (par exemple, la bioinformatique), des protocoles, des réseaux ainsi que des normes internationales régissant leur application devront être développés davantage.

En général, les participants ont convenu qu'il faut d'abord identifier des risques particuliers et ensuite déterminer s'ils sont associés à des changements moléculaires spécifiques. Ils ont également indiqué que des recherches étaient nécessaires afin d'étendre l'utilisation et le développement de nouveaux outils moléculaires pour la surveillance après la mise en marché.

4.2 Considérations relatives à l'allergénicité

Les participants ont convenu des besoins de recherche dans plusieurs domaines liés à l'évaluation de l'allergénicité potentielle. Un premier besoin est la mise au point de techniques de dosage en temps réel pour la détection et la prédiction de tous les allergènes (autres que les huit principaux) dans les aliments entiers et les ingrédients alimentaires. Les participants ont également reconnu qu'une meilleure connaissance des caractéristiques biochimiques des protéines aiderait à évaluer leur capacité à déclencher une réaction allergique. Les protéines allergènes et non-allergènes devront faire l'objet de cette caractérisation afin d'être en mesure de les distinguer.

De plus, les participants ont souligné la nécessité d'élaborer des méthodes prédictives fondées sur des approches de criblage de sérum spécifiques et/ou ciblés, y compris la création de sérothèques. Ils ont également mentionné qu'une meilleure compréhension des niveaux seuil des réactions allergiques ainsi que ceux de sensibilisation est nécessaire.

Les participants ont également souligné que l'élaboration de techniques et de modèles animaux validés serait bénéfique. Ils ont cependant conclu que même si des recherches approfondies étaient nécessaires dans de nombreux domaines, beaucoup de travaux sont présentement en cours au niveau international pour régler plusieurs de ces questions.

4.3 Considérations toxicologiques

Après s'être penchés sur la question des effets toxicologiques aigus et chroniques, les participants ont généralement convenu que les deux types d'effets doivent être examinés lors des

évaluations de l'innocuité des aliments nouveaux. Jusqu'à présent, la recherche a porté principalement sur les effets aigus puisque les changements apportés aux aliments introduits sur le marché étaient relativement simples. Toutefois, en prévision de la venue de produits plus complexes, la recherche devra maintenant être axée sur les effets chroniques afin d'augmenter les connaissances scientifiques dans ce domaine.

Les participants ont recommandé l'utilisation d'une approche scientifique par étapes pour déterminer les exigences en matière de données toxicologiques lors des examens réglementaires des aliments plus complexes. Cette approche nécessite l'obtention de données de référence en ce qui a trait aux niveaux des composés toxiques naturellement présents dans les aliments non-GM afin de déterminer si les changements (intentionnels ou non) observés dans un produit GM se situent dans la fourchette de variation naturelle. Lorsque les niveaux observés se trouvent à l'extérieur de cette fourchette de variation, les exigences en terme des essais toxicologiques requis devront être définies sur la base des caractéristiques du composé en question et l'exposition humaine potentielle. Cette approche exige également l'élaboration de méthodes normalisées.

De plus, la nécessité de développer des biomarqueurs sensibles et validés pour l'évaluation des effets en terme d'immunotoxicité, cancérogénicité, neurotoxicité ainsi que des effets sur le système reproductif a été souligné. Les participants ont reconnu que l'expérience acquise et certains protocoles d'essais (comme certains modèles animaux) utilisés dans le cadre d'évaluations nutritionnelles pourraient être appliqués aux évaluations toxicologiques. Ces connaissances et outils pourraient également faciliter le développement de tests toxicologiques normalisés ainsi que de protocoles d'essais des aliments entiers. Il a été également indiqué que les autorités de réglementation et les toxicologues de l'industrie pharmaceutique, agricole et chimique pourraient avoir à leur disposition des renseignements sur les biomarqueurs qui pourraient être appliqués aux aliments. Le groupe a également proposé que les données de certains produits toxiques connus soient utilisés comme points indicateurs lors des essais d'aliments nouveaux.

4.4 Considérations nutritionnelles

Les participants ont discuté de la nécessité de normaliser les procédures d'essais chez les animaux ainsi que des constituants bioactifs pour l'évaluation nutritionnelle dans les situations où il n'y a pas de modèle animal (comme le brocoli et la papaye). Le besoin de définir les constituants qui doivent être comparés lors d'une analyse complète de la composition nutritionnelle et des composés bioactifs a aussi été souligné.

De plus, les participants ont indiqué la nécessité de créer une banque de données nutritionnelles de référence qui fournirait de l'information sur les fourchettes de variation naturelles des différents constituants. Ils ont également souligné la nécessité d'avoir des données sur le régime alimentaire des Canadiens. Le but des ces données serait de déterminer les niveaux et les tendances de consommation d'aliments particuliers ou de groupes alimentaires par les Canadiens et peut-être l'exposition aux aliments génétiquement modifiés ou aux contaminants /toxines

alimentaires.

En général, les participants ont convenu que l'évaluation nutritionnelle doit prendre en compte la nature des modifications apportées à l'aliment ainsi que les risques potentiellement associés à ces changements. Ils ont indiqué que l'évaluation des impacts nutritionnels est complexe et doit s'appuyer sur un large éventail de données, y compris des données provenant d'analyses de caractérisation moléculaire, d'essais sur des animaux et des données sur les habitudes alimentaires des individus et de la population en général.

4.5 Surveillance après la mise en marché

Le groupe a indiqué la nécessité d'évaluer les effets cumulatifs de l'exposition aux aliments GM et pour ce faire, d'élaborer un mécanisme permettant d'identifier les effets indésirables et relier ces effets à la consommation d'aliments GM. Des recherches sont aussi nécessaires afin d'avoir une meilleure connaissance des habitudes de consommation et des niveaux de consommation d'aliments GM des Canadiens. De plus, des données de référence en matière de consommation alimentaire devront être utilisées pour vérifier les hypothèses mises de l'avant. Certains participants ont aussi indiqué qu'il faut préciser ce qu'on entend par « données de référence » car des aliments GM sont déjà sur le marché.

Pour répondre à ces questions, les participants ont indiqué qu'il faut examiner les habitudes de consommation alimentaire pour déterminer la contribution des aliments GM dans l'apport alimentaire et relier ces résultats à l'exposition. Ils ont également souligné que les besoins en recherche identifiés (comme l'obtention de données de référence) par les groupes de discussion portant sur les autres thèmes devront être adressés afin de pouvoir mettre en oeuvre un mécanisme de surveillance. Ce mécanisme devra adresser les questions du signalement, de l'évaluation et la validation des effets indésirables signalés. Les participants ont de plus souligné les possibilités de collaboration avec le milieu universitaire dans ce domaine. Certains éléments des mécanismes de surveillance mis en place pour d'autres types de produits pourraient aussi être appliqués aux aliments GM.

Le Centre de coordination de la surveillance de Santé Canada tiendra à Ottawa les 16 et 17 octobre 2002 une conférence internationale sur la surveillance après mise en marché des aliments GM afin de discuter des aspects techniques ainsi, défis et possibilités dans ce domaine.

5. PROCHAINES ÉTAPES ET MOT DE LA FIN

Les besoins en recherche et les prochaines étapes ont été définis pour chacun des thèmes examinés (prière de consulter le tableau sommaire ci-dessous). Pour ce qui est de l'obtention des données de référence, besoin qui s'est avéré commun à tous les thèmes, il a été reconnu qu'une collaboration avec le milieu universitaire est nécessaire pour aller de l'avant puisque de nombreux projets de recherche y sont actuellement en cours ou prévus. La nécessité de développer des normes internationales pour les méthodes et les protocoles d'essais a aussi été soulevé dans plusieurs discussions de groupes. Le gouvernement se propose donc de demander au Groupe spécial sur la sécurité des nouveaux aliments destinés à l'alimentation humaine et animale de l'OCDE d'examiner la question des protocoles d'essais toxicologiques et nutritionnels des aliments entiers.

La caractérisation moléculaire des aliments GM est un domaine où de nouveaux outils analytiques sont présentement en cours de développement. La principale lacune identifiée pour l'utilisation de ces nouvelles techniques étant le manque de données de référence, il a été proposé, comme première étape, de générer de telles données de base pour les principales cultures vivrières (comme le maïs).

Dans le domaine de l'allergénicité, comme la plupart des travaux sont menés à l'échelle internationale, il s'avère donc important de déterminer les travaux actuellement en cours afin de mieux définir les domaines spécifiques où l'expertise canadienne pourrait contribuer. En ce qui concerne la création de banques de sérum, l'International Life Science Institute (ILSI) est à examiner cette question et les possibilités de collaboration avec cette organisation devront être explorées.

Pour ce qui est des considérations toxicologiques, le groupe a proposé que les connaissances existantes (comme les modèles animaux pour l'évaluation nutritionnelle) soient analysées par un comité d'expert afin d'élaborer des protocoles d'essais normalisés. Cela pourrait potentiellement faciliter le développement de protocoles d'essais pour les aliments entiers.

Le Conseil de recherches agro-alimentaires du Canada (CRAC) et la Société de toxicologie du Canada ont été proposés comme forum possible pour un tel comité de représentants du milieu universitaire, industriel et gouvernemental.

En ce qui concerne les besoins en recherche dans le domaine de la nutrition, on a proposé que Santé Canada mène une enquête sur les habitudes alimentaires et le statut nutritionnel des Canadiens. On a également encouragé le Ministère à collaborer avec le milieu universitaire, industriels et groupes connexes, comme l'Institut national de la nutrition (INN), pour répondre aux besoins identifiés lors des discussions.

En ce qui concerne la question de la surveillance après la mise en marché, le groupe a conclu que même si Santé Canada et Environnement Canada ont tous deux des projets en cours, un projet à plus grande échelle sur les effets possibles sur la santé des aliments GM devrait être entrepris

avec le concours de la collectivité scientifique. On a également noté qu'il existe de nombreuses études qui pourraient contenir des données ou des méthodologies pertinentes qui pourraient être appliquées à la surveillance à long terme des aliments GM.

Tableau 1. Résumé des besoins identifiés lors des discussions de groupes

Caractérisation moléculaire	*Allergénicité*	*Toxicologie*	*Nutrition*	*Surveillance après la mise en marché*
Générer des données de référence sur le profil d'expression génomique des principales cultures vivrières	Mise au point de techniques de dosage en temps réel permettant l'évaluation et la détection et des allergènes	Établir des données de référence pour des produits non-GM (des données sur la fourchette de variation naturelle)	Création d'une banque de données nutritionnelles de référence	Collecte de données sur les habitudes de consommation alimentaire et l'apport alimentaire des Canadiens pour établir le niveau d'exposition aux aliments GM
Mise au point d'outils (p.ex., bioinformatique), de méthodologies et de réseaux pour l'obtention de données de référence	Établir des banques de sérum pour évaluer l'allergénicité potentielle des protéines	Mise au point de méthodes normalisées de tests toxicologiques	Développement de méthodes normalisées pour des tests nutritionnels sur les animaux	Établir des mécanismes de signalement des réactions indésirables
Mise au point de techniques normalisées internationales pour l'application de ces outils et méthodologies	Développer des méthodes ciblées et spécifiques de criblage sériques pour évaluer l'allergénicité potentielle des protéines	Développer et valider des biomarqueurs sensibles pour l'évaluation des effets possibles sur la reproduction, l'immunotoxicité, la cancérogénicité et la neurotoxicité des nouvelles substances	Définir les éléments nutritifs et les constituants bioactifs à être évalués pour les différentes espèces de plantes	Mise au point des protocoles standards pour l'évaluation des signalements des réactions indésirables
Étendre l'utilisation et le développement de tests moléculaires pour leur application dans la surveillance après la mise en marché	Déterminer les seuils de sensibilisation et les seuils de réactions allergiques	Évaluer des méthodes utilisées dans d'autres domaines (modèles animaux en nutrition) pour leur application potentielle dans le domaine de la toxicologie	Collecte de données sur les habitudes de consommation alimentaire et l'apport alimentaire des Canadiens pour établir le niveau d'exposition aux aliments GM	
	Mise au point de modèles animaux pour évaluer l'allergénicité potentielle des protéines	Collecte d'information sur les biomarqueurs utilisés dans l'industrie pharmaceutique, agricoles et chimiques pour leur application potentielle aux aliments		

Paul Mayers a remercié les membres du groupe de leur participation. Il a mentionné qu'en

premier lieu, Santé Canada examinerait les résultats des discussions et explorerait, par l'entremise du CRAC, les possibilités d'élaboration de stratégie en vue de favoriser la collaboration entre les spécialistes du gouvernement et du milieu privé pour faire progresser les questions soulevées.

6. ÉVALUATION

CE QUI S'EST BIEN DÉROULÉ

- Les animateurs étaient bons (5)
- Les présentations avant les discussions en groupes étaient bien réglées, renfermaient des informations appropriées et ont aidé les participants à se familiariser avec les différents domaines de recherche (4)
- Discussions élargies et éclairées (4)
- Endroit agréable (3)
- Les groupes de discussion étaient bien organisés et ont permis des discussions très constructives (2)
- Bonne représentation et participation de l'industrie, du milieu universitaire et du gouvernement (2)
- Lacunes en recherche définies efficacement (2)
- Bonne sélection d'experts (2)
- Formule permettant l'échange d'idées de façon organisée (4)
- Tout le monde a pu exprimer son opinion
- Tout le monde s'intéressait de près à l'amélioration de la science
- Tout le monde était poli et prévenant
- Bon aperçu des initiatives
- Discussions préliminaires brèves
- Stationnement gratuit

CE QUI AURAIT PU ÊTRE MIEUX

- Les documents et les adresses de sites web auraient dû être fournis avant la rencontre (4)
- Les délais impartis étaient trop courts pour s'attaquer aux problèmes complexes (4)
- Est-ce que des mesures seront prises à la suite de cette réunion? (2)
- Il faut attribuer des responsabilités (2)
- Plus de représentants du milieu universitaire pour comprendre l'état actuel de la recherche (2)
- Les groupes de discussion de l'après-midi sur la toxicologie et l'allergénicité auraient dû être plus petits
- Indiquer la voie à suivre pour déterminer les besoins en recherche afin de combler les lacunes.
- On aurait dû mettre l'accent sur des thèmes prédéfinis.
- L'objectif de la surveillance après la mise en marché.
- La capacité de définir les résultats négatifs par rapport à un historique des habitudes alimentaires en constant changement sans l'estimation complète du contexte des apports.
- Mise en oeuvre de tests normalisés d'aliments entiers.
- Dresser un plan des éléments de suivi
- Pas beaucoup d'experts réels sauf ceux de Santé Canada.
- Il semble qu'on ait déjà organisé une réunion de la sorte et que peu de conclusions s'en sont dégagées.
- On aurait dû tenir cette séance avant (c.-à-d., avant l'introduction des aliments GM dans les disponibilités alimentaires).
- Qu'en est-il du volet sur l'évaluation environnementale de la question des aliments GM?
- Poursuivre dans cette foulée.
- Faire rapport dès que possible

7. LISTE DES PARTICIPANTS

James D. Astwood (Ph.D.)
BIOTECanada
Directeur, Product Safety Center
Monsanto Company
800 North Lindbergh Blvd
St. Louis, MO 63167
Tél: (314) 694-8396 Téléc: (314) 694-8562
james.d.astwood@monsanto.com

Roy Atkinson
Secrétaire général
Industrie Canada, Secrétariat canadien de la biotechnologie
235 rue Queen
Ottawa, Ontario K1A 0K5
Tél: (613) 946-8926 Téléc: (613) 941-5533
atkinson_roy@biotech.gc.ca

Reem Barakat
Section des aliments du bétail
Agence canadienne d'inspection des aliments
59 promenade Camelot
Ottawa, Ontario K1A 0Y9
Tél: (613) 225-2342 Téléc: (613) 228-6614
barakatr@inspection.gc.ca

Samuel Ben-Rejeb (Ph.D.)
Chercheur scientifique
Santé Canada, Division de la recherche sur les aliments
3 ième étage, Centre de recherche
Sir Frederick Banting
Pré Tunney
Ottawa, Ontario K1A 0L2
Tél: (613) 952-5885 Téléc: (613) 941-4775
samuel_ben-rejeb@hc-sc.gc.ca

Rita Beregszaszy
Gestionnaire de projet
Santé Canada, Centre de coordination de la surveillance
3ième étage, 130 rue Colonnade
Ottawa, Ontario K1A 0K9
Tél: (613) 957-8450 Téléc: (613) 952-3196
rita_beregszaszy@hc-sc.gc.ca

Luc Bourbonnière
Évaluateur scientifique
Santé Canada, Direction de l'évaluation du Bureau des dangers microbiens
4 ième étage, Centre de recherche Sir Frederick Banting
Pré Tunney
Ottawa, Ontario K1A 0L2
Tél: (613) 946-1318 Téléc: (613) 941-8849
luc_bourbonniere@hc-sc.gc.ca

Conrad G. Brunk (Ph.D.)
Professeur en psychologie
Conrad Grebel University College
Université de Waterloo
Adresse sabbatique:
17-5187 rue Cordova Bay
Victoria, Colombie Britannique V8Y 2K7
Tél: (250) 727-2000
cbrunk@uwaterloo.ca

Renée Carrière
Agent de la réglementation
Santé Canada, Bureau d'intégration de la politique alimentaire
Sous-sol, édifice #7
Pré Tunney
Ottawa, Ontario K1A 0L2
Tél: (613) 941-8219 Téléc: (613) 946-4590
renée_carriere@hc-sc.gc.ca

Lina Castelluzzo
Évaluateur scientifique
Santé Canada, Division de l'évaluation de la

nutrition
3 ième étage, Centre de recherche Sir Frederick Banting
Pré Tunney
Ottawa, Ontario K1A 0L2
Tél: (613) 957-0940 Téléc: (613) 941-6636
lina_castelluzzo@hc-sc.gc.ca

Pierre Charest (Ph.D.)
Directeur général
Santé Canada, Bureau de la biotechnologie et de la science
1ier étage, édifice #7
Pré Tunney
Ottawa, Ontario K1A 0L2
Tél: (613) 946-1613 Téléc: (613) 957-0362
pierre_charest@hc-sc.gc.ca

Stacy Charlton
CropLife Canada
21 Four Seasons Place, Suite 627
Etobicoke, Ontario M9B 6J8
Tél: (416) 622-9771
Téléc: (416) 622-6764

Karen Dodds (Ph.D.)
Directrice général
Santé Canada, Direction des aliments
1ier étage, édifice #7
Pré Tunney
Ottawa, Ontario K1A 0L2
Tél: (613) 957-1821 Téléc: (613) 957-1784
karen_dodds@hc-sc.gc.ca

Ottawa, Ontario K1P 5E7
Tél: (613) 239-0612 Téléc: (613) 239-0619
salmon_@aquaculture.ca

Brian E. Ellis (Ph.D.)
Directeur associé
UBC Biotechnology Laboratory
Faculty of Agricultural Sciences
Suite 231-2357 Main Mall
University of British Columbia
Vancouver, Bristish Columbia V6T 1Z4
Tél: (604) 822-3451 Téléc: (604) 822-8640
bee@interchange.ubc.ca

Jeffrey Farber (Ph.D.)
Directeur
Santé Canada, Bureau de dangers microbiens
3 ième étage, Centre de recherche Sir Frederick Banting
Pré Tunney
Ottawa, Ontario K1A 0L2
Tél: (613) 957-0880 Téléc: (613) 954-1198
jeffrey_farber@hc-sc.gc.ca

Peter Fischer (Ph.D.)
Chef
Santé Canada, Division de la recherche sur la nutrition
3 ième étage, Centre de recherche Sir Frederick Banting
Pré Tunney
Ottawa, Ontario K1A 0L2
Tél: (613) 957-0919 Téléc: (613) 941-6182
peter_fischer@hc-sc.gc.ca

Dr. Gavin Downing
Secrétaire général
Consortium sur la santé du saumon
907-75 rue Albert

Marc Fortin (Ph.D.)
William Dawson Scholar
Professeur associé et président
Département de phytologie

Université McGill
21 - 111 Lakeshore
Ste-Anne-de-Bellevue, Québec H9X 3V9
Tél: (514) 398-7851 poste 8384
Téléc: (514) 398-7897
marc.fortin@mcgill.ca

G. Sarwar Gilani, (Ph.D.)
Chercheur scientifique
Santé Canada, Division de la recherche sur la nutrition
3 ième étage, Centre de recherche Sir Frederick Banting
Pré Tunney
Ottawa, Ontario K1A 0L2
Tél: (613) 957-0933 Téléc: (613) 941-6182
Sarwar_Gilani@hc-sc.gc.ca

Roger Gould
Fabricants de produits alimentaires du Canada
1600 rue Scott, Suite 415
Ottawa, Ontario K1Y 4N7
Tél: (613) 722-1000 Téléc: (613) 722-1404
gould@zeuter.com

Jason J. Hlywka (Ph.D.)
Chercheur principal
Cantox Health Sciences International
2233 rue Argentia, Suite 308
Mississauga, Ontario L5N 2X7
Tél: (905) 542-2900 ext.287
Téléc: (905) 542-1011
jhlywka@cantox.com

Larry Holbrook (Ph.D.)
BIOTECanada
Chercheur scientifique
SemBioSys Genetics Inc.
110 2985 - 23 ième avenue Nord Est
Calgary, Alberta T1Y 7L3
Tél: (403) 250-5424 ext.30
Téléc : (403) 250-3886
holbrook1@sembiosys.ca

Natalie Hubbard
CropLife Canada
21 place Four Seasons, Suite 627
Etobicoke, Ontario M9B 6J8
Tél: (416) 622-9771 Téléc: (416) 622-6764

Johanna Jennings
Évaluateur scientifique
Santé Canada, Direction de l'évaluation du Bureau des dangers microbiens
4 ième étage, Centre de recherche Sir Frederick Banting
Pré Tunney
Ottawa, Ontario K1A 0L2
Tél: (613) 946-1317 Téléc: (613) 952-6400
johanna_jennings@hc-sc.gc.ca

Xiaoyan Jia, (Ph.D.)
Spécialiste de laboratoire
Santé Canada, Laboratoire des résidus organiques
2 ième étage, Laboratoire de Burnaby
3155 Willingdon Green
Burnaby, Colombie Britannique V5G 4P2
Tél: (604) 666-5584 Téléc: (604) 666-3149
xiaoyan_jia@hc-sc.gc.ca

Dr. Rhoda Kagan
Hôpital pour enfants de Montréal
2300 rue Tupper, pièce C-426
Montréal, Québec H3H 1P3
Tél: (514) 934-4475 Téléc: (514) 934-4311

rhoda.kagan@muhc.mcgill.ca

John J. Kennelly (Ph.D.)
Professeur et président
Department of Agricultural, Food and Nutritional Science, University of Alberta
410 AgFor Centre
Edmonton, Alberta T6G 2P5
Tél: (780) 492-2131 Téléc: (780) 492-4265
john.kennelly@ualberta.ca

Lois King
Association d'information sur les allergies et l'asthme
50 rue Pleasant Park
Ottawa, Ontario K1H 5L8
Tél: (613) 526-3583
loisaking@hotmail.com

Dalia T. Kudirka (Ph.D.)
Conseil de recherches agroalimentaires du Canada
7ième étage, édifice Sir John Carling
Ottawa, Ontario K1A 0C5
Tél: (613) 759-7858 Téléc: (613) 759-7769
krdirkad@em.agr.ca

Nora Lee
Évaluateur scientifique
Santé Canada, Division d'évaluation de la nutrition
3 ième étage, Centre de recherche
Sir Frederick Banting, Pré Tunney
Ottawa, Ontario K1A 0L2
Tél: (613) 957-1740 Téléc: (613) 941-6636
nora_lee@hc-sc.gc.ca

Dr. Francois Levac
Médecin - Surveillance en environnement
Régie régionale de la santé et des services sociaux de la Montérégie
1255, rue Beauregard
Longueil, Québec J4K 2M3
Tél: (450) 928-6777 poste 4061
Téléc: (450) 928-3760
f.levac@rrsss16.gouv.qc.ca

Sue MacIntosh
CropLife Canada
21 Four Seasons Place, Suite 627
Etobicoke, Ontario M9B 6J8
Tél: (416) 622-9771
Téléc: (416) 622-6764

Mary Alton Mackey (Ph.D.)
Les diététistes du Canada
480 University Avenue,
Suite 604
Toronto, Ontario M5G 1V2
Tél: (416) 596-0857 Téléc: (416) 596-0603
maryaltonmackey@sympatico.ca

Paul Mayers
Directeur général associé intérimaire
Santé Canada, Direction des aliments
1ier étage, édifice #7
Pré Tunney
Ottawa, Ontario K1A 0L2
Tél: (613) 952-3368 Téléc: (613) 957-1784
paul_mayers@hc-sc.gc.ca

Karen McIntyre
Directrice associée
Santé Canada, Bureau d'intégration de la politique alimentaire
Sous-sol, édifice #7
Pré Tunney
Ottawa, Ontario K1A 0L2
Tél: (613) 946-4822 Téléc: (613) 946-4590
karen_mcintyre@hc-sc.gc.ca

Rekha Mehta (Ph.D.)
Sous-Chef
Santé Canada, Division de la recherche toxicologique
2 ième étage, Centre de recherche
Sir Frederick Banting, Pré Tunney

Ottawa, Ontario K1A 0L2
Tél: (613) 957-0938 Téléc: (613) 941-6959
rekha_mehta@hc-sc.gc.ca

Keith Mussar
BIOTECanada
Fabricants de produits alimentaires et de consommation du Canada
885 rue Don Mills, Suite 301
Toronto, Ontario M3C 1V9
Tél: (905) 542-2082
kmussar@hotmail.com

Franco Pagotto (Ph.D.)
Chercheur scientifique
Santé Canada, Division de l'évaluation
4 ième étage, Centre de recherche
Sir Frederick Banting ,Pré Tunney
Ottawa, Ontario K1A 0L2
Tél: (613) 957-0895 Téléc: (613) 941-0280
franco_pagotto@hc-sc.gc.ca

Mireille Prud'homme
Directrice associée intérimaire
Santé Canada, Bureau d'intégration de la politique alimentaire
Sous-sol, édifice #7
Pré Tunney
Ottawa, Ontario K1A 0L2
Tél: (613) 946-4594 Téléc: (613) 946-4590
mireille_prudhomme@hc-sc.gc.ca

David Rideout
Secrétaire général
Alliance de l'industrie canadienne de l'aquaculture
907-75 rue Albert
Ottawa, Ontario K1P 5E7
Tél: (613) 239-0612 poste # 1
Téléc: (613) 239-0619
rideoutcaia@aquaculture.ca

Erin L. Schock
Agent principal de projet
Santé Canada, Centre de coordination de la surveillance
3ième étage, 130 rue Colonnade
Ottawa, Ontario K1A 0K9
Tél: (613) 957-0852 Téléc: (613) 952-3196
erin_l schock@hc-sc.gc.ca

Irene Strychar (Ph.D.)
Association canadienne de santé publique
Professeur agrégé, Département de nutrition.
Faculté de Médecine, Université de Montréal
Chercheur, Centre de Recherche,
Hôpital Notre-Dame du CHUM,
Pavillion Mailloux, Porte M-8215,
1560 Sherbrooke Est
Montréal, Québec H2L 4M1
Tél: (514) 890-8000 poste 28040
(514) 342-2492 (message vocal)
Téléc: (514) 412-7603
irene.strychar@umontreal.ca

Laura Tagliani
CropLife Canada
Global Leader, Biotech Regulatory Science, Regulatory Laboratories,
Dow AgroSciences LLC
9330 Zionsville Road
Indianapolis, IN 46268
Tél: (317) 337-3504 Téléc: (317) 337-3235
latagliani@dow.com

Helen Tryphonas (Ph.D.)
Chercheure scientifique
Santé Canada,
Division de la recherche toxicologique
2 ième étage, Centre de recherche
Sir Frederick Banting, Pré Tunney
Ottawa, Ontario K1A 0L2

Tél: (613) 957-0996 Téléc: (613) 941-6959
helen_tryphonas@hc-sc.gc.ca

William Yan (Ph.D.)
Chef
Santé Canada, Division de l'évaluation du
Bureau des dangers microbiens
4 ième étage, Centre de recherche
Sir Frederick Banting
Pré Tunney
Ottawa, Ontario K1A 0L2
Tél: (613) 941-5535 Téléc: (613) 952-6400
william_yan@hc-sc.gc.ca

ANNEXE 1 : TECHNOLOGIE DES PUCES À ADN : APPLICATIONS ET UTILISATIONS POUR LA SANTÉ ET L'INNOCUITÉ DES ALIMENTS GM

Franco Pagotto
Chercheur, Division de la recherche microbiologique, Bureau des dangers microbiens, Direction des aliments, Santé Canada

Résumé

Les aliments produits par la technologie du génie génétique se trouvent maintenant sur le marché et de nombreux autres sont susceptibles d'apparaître dans l'avenir. La détection des OGM prend de l'importance en réponse à la résistance des consommateurs aux aliments GM en raison de leurs préoccupations à l'égard (i) des risques potentiels à la santé découlant de la composition biochimique modifiée des aliments GM ou de l'introduction involontaire d'allergènes; (ii) du contrôle des droits de propriété sur ceux-ci et (iii) des questions environnementales. Récemment, l'Union européenne et de nombreux autres pays industrialisés ont annoncé la mise en oeuvre de nouveaux règlements exigeant que les aliments contenant plus de 1 p. 100 d'OGM soient étiquetés et de plus en plus, en Amérique du Nord, on presse les gouvernements d'adopter une réglementation similaire. Une politique du genre aura des conséquences sociales et économiques de premier ordre pour le secteur agro-alimentaire canadien, principal exportateur de produits agricoles visés par la question des OGM. Au Canada, certaines des principales cultures ayant fait l'objet de modifications génétiques sont le maïs (Bt, Liberty Link et Roundup Ready), la pomme de terre (résistance aux pathogènes), le soya (Roundup Ready) et le canola (Liberty Link, Roundup Ready, tolérance au bromoxynil, androstérilité, restaurateur de fertilité, High Laurate). Les méthodes actuelles de détection des modifications génétiques des aliments et des échantillons connexes sont longues et sont laborieuses. Pour réglementer de façon judicieuse l'étiquetage des OGM, des nouvelles techniques quantitatives sont requises pour détecter les différentes modifications génétiques.

Le manque de méthodes analytiques validées au Canada rend actuellement difficile l'élaboration de programme de test réglementaire pour la surveillance d'OGM dans les aliments. À l'heure actuelle, il n'y a pas de technologies analytiques en mesure de détecter simultanément un grand nombre de modifications génétiques, ce qui limite grandement notre capacité analytique. En conséquence, la mise au point de technologie des biopuces fournira un outil précieux pour la mise en oeuvre d'un programme réglementaire. Le projet vise notamment à (a) élaborer des procédures complètes de détection et d'identification des OGM en se fondant sur la technologie des biopuces et (b) à évaluer et à optimiser les systèmes de détection misant sur les puces à ADN pour l'analyse des OGM dans les aliments transformés, les ingrédients alimentaires et échantillons connexes tels le soya, le maïs, les pommes de terre et le canola génétiquement modifiés.

Une technologie d'avant-garde sera élaborée pour permettre à l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) et au secteur agro-alimentaire de détecter la présence d'OGM dans les aliments et les produits connexes afin de satisfaire aux exigences nationales et internationales en

matière d'étiquetage. Le secteur agro-alimentaire canadien aura un meilleur accès aux marchés d'exportation étrangers grâce à la capacité de déterminer la présence d'OGM dans les produits utilisant cette nouvelle capacité analytique. Même s'il n'y pas de preuve que les aliments GM ont des effets négatifs sur la santé humaine, de nombreuses craintes persistent, créant un climat de plus en plus défavorable aux progrès dans ce domaine. La disponibilité de technologies analytiques permettant à des organismes responsables de surveiller la présence d'OGM dans les aliments démontrera à la population que la science et la technologie sont encadrées de façon consciencieuse dans ce pays et préviendra l'introduction involontaire de composants dangereux pour la santé aux aliments comme des allergènes.

La technologie des puces à ADN est maintenant une technologie applicable à l'analyse d'ADN puisque ses caractéristiques (échelle réduite, précision et vitesse d'exécution) en font une solution de rechange idéale à la technique de réaction en chaîne de la polymérase en ce qui a trait à la détection et l'identification des aliments GM. Les oligonucléotides de 12 à 15 nucléotides disposés sur les surfaces des puces peuvent être hybridés avec un ADN complémentaire présent dans un échantillon et visualisés quantitativement à l'aide d'un colorant fluorescent en utilisant un système d'analyse d'images commercial. Le projet proposé comprendra l'identification de séquences et la synthèse d'oligonucléotides pour les principales modifications génétiques autorisées pour le maïs, le soya, le canola et la pommes de terre. Les conditions de l'immobilisation des sondes et des hybridations subséquentes avec des ADN cibles (ADN extrait des échantillons de test) seront optimisées. L'ADN cible sera fragmenté de façon mécanique (sonication aux ultrasons), enzymatique (digestion à l'aide d'ADN-ase) ou chimique (hydrolyse métal-ligand) pour que les fragments aient la taille idéale afin d'assurer l'efficacité de l'interaction avec les sondes immobilisées. On mettra au point des procédures d'extraction d'ADN de divers types d'échantillons, comme des semences, des tissus végétaux et des aliments (p. ex. , croustilles de maïs et miel). Ces procédures comprendront l'examen de système d'extraction d'ADN automatisé pour le traitement simultané d'un grand nombre d'échantillons. On perfectionnera la technique des puces afin de permettre une analyse quantitative d'OGM pour extrapoler les niveaux d'OGM dans l'échantillon source. Pour ce faire, on assurera un haut niveau de qualité d'uniformité par le biais de la préparation de sondes de haute qualité ainsi que l'exploitation du logiciel de numérisation de puces pour l'analyse des données. Enfin, un fois le système optimisé obtenu, l'analyse d'une variété d'aliments, de cultures et d'échantillons connexes sera effectuée afin de déterminer la performance de la technique en terme de sensibilité, spécificité et reproductibilité.

L'équipe travaillant à ce projet comprend : Jeffrey Farber (Santé Canada), Nathalie Corneau (Santé Canada) ainsi que Burton W. Blais et Amalia Martinez (Agence canadienne d'inspection des aliments).

ANNEXE II : TOXICOLOGIE ET ALLERGÉNICITÉ - QUESTIONS, DÉFIS ET RECHERCHE ACTUELLE À LA DIRECTION DES ALIMENTS

Rekha Mehta
Sous-chef, Division de la recherche toxicologique, Bureau d'innocuité des produits chimiques, Direction des aliments, Santé Canada

Questions

En vertu de la *Loi sur les aliments et drogues*, la Direction des aliments de Santé Canada est responsable de l'évaluation de l'innocuité des nouveaux produits tels que ceux mis au point par manipulation génétique (aliments génétiquement modifiés ou aliments GM) ou par l'addition de vitamines ou minéraux. Au Canada, les aliments GM subissent une évaluation approfondie par les ministères fédéraux et sont réglementés en tant qu' « aliment nouveau ». Le mécanisme d'évaluation de l'innocuité repose sur des principes issus de consultations d'experts internationaux menées par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), ainsi que l'Organisation de coopération et de développement économique (OCDE). Les aliments GM actuellement sur le marché consistent en grande partie de plantes ayant subi des modifications génétiques simples, tels que l'ajout de un ou deux caractères. Toutefois, la prochaine génération d'aliments GM est susceptible de provenir à la fois de plantes et d'animaux transgéniques, par la modification de caractères plus complexes et ayant une composition chimique et nutritionnelle modifiée. La reconnaissance du potentiel de complexification des futurs aliments GM ainsi que leur examen minutieux par le public et les experts ont entraîné le réexamen des directives de réglementation actuelles des produits issus de la biotechnologie alimentaire au Canada et dans le monde. Par conséquent, en décembre 1999, les ministres de la Santé, de l'Agriculture et de l'Agroalimentaire et de l'Environnement ont demandé à la Société royale du Canada de constitué un Comité d'experts scientifiques afin de les conseiller sur la capacité scientifique dont devra se doter le gouvernement fédéral pour être en mesure de continuer d'assurer l'innocuité des nouveaux aliments issus de la biotechnologie dans les prochains 10 à 15 ans. Le Comité d'experts (2001) a fait un certain nombre de recommandations, notamment :

- peaufiner l'approche pour l'évaluation de l'allergénicité potentielle des aliments GM;
- améliorer les critères d'essais toxicologiques des aliments GM;
- élaborer et valider les protocoles de d'essais d'aliments entiers en vue de la venue d'aliments GM présentant des modifications compositionnelles et nutritionnelles complexes.

Des recommandations similaires ont découlé de plusieurs examens importants de stratégies d'évaluation de produits issus de la biotechnologie effectués par des groupes d'experts du monde entier, par exemple, *l'American Medical Association* (AMA), la *British Royal Society* et le *US National Academy of Sciences*. Santé Canada a élaboré un plan d'action détaillé pour examiner les recommandations du Comité d'experts scientifiques de la Société royale du Canada, incluant

un programme de recherche et développement pour continuer d'assurer la sécurité des aliments nouveaux issus de la biotechnologie au 21e siècle.

Défis et recherche actuelle

Allergénicité

Jusqu'à récemment, les questions relatives à la santé humaine des aliments GM étaient liées plus particulièrement à l'allergénicité potentielle due à la présence de quantités infimes d'une ou plusieurs protéines nouvelles exprimées par l'ADN recombinant dans les cultures vivrières GM et les protéines nouvelles en tant qu'enzymes utilisées pour la transformation des aliments. La méthode actuelle d'évaluation de l'allergénicité potentielle se fonde sur les données relatives au niveau d'expression de la nouvelle protéine dans l'aliment GM, sa stabilité de transformation et de digestion dans le tube digestif mammalien, l'homologie de la séquence d'acides aminés avec celle des allergènes alimentaires connus et la fixation immunochimique de la nouvelle protéine avec des IgE provenant du sérum sanguin des personnes aux prises avec des allergies à l'organisme donneur du gène transféré.

En ce qui concerne l'amélioration de l'évaluation de l'allergénicité, les activités de Santé Canada comprennent sa participation à la consultation d'experts de la FAO/OMS (2000-2001) et l'élaboration d'une annexe sur l'allergénicité pour joindre aux *Lignes directrices du Codex sur l'évaluation de la sécurité des aliments issus des plantes obtenues par les techniques de l'ADN recombiné*. La consultation d'experts de la FAO/OMS (2001) a recommandé une approche hiérarchique pour l'évaluation de l'allergénicité des aliments GM, qui laisse entendre que les modèles animaux, s'ils sont suffisamment élaborés et validés, pourraient fournir des informations précieuses pour la méthode d'identification de la sensibilisation potentielle aux protéines alimentaires. En réponse à cette recommandation, des scientifiques de Santé Canada ont organisé un atelier de deux jours à Ottawa en novembre 2001. Plusieurs scientifiques éminents y ont participé pour examiner et améliorer les modèles animaux pour évaluer l'allergénicité ainsi que pour discuter de leur applicabilité éventuelle aux prédictions d'allergénicité des aliments, incluant les OGM. Le compte-rendu de l'atelier a été soumis à la revue *Environmental Health Perspectives* (2002, in press) aux fins de publication. Un résumé du compte-rendu se trouve à l'annexe III. Les participants de l'atelier ont convenu que même s'il n'y pas de modèle animal unique qui satisfait idéalement aux exigences, chacun des modèles est bien fondé et lorsque validé, il peut renforcer l'évaluation globale de l'allergénicité des produits dont les protéines sont dérivées d'organismes génétiquement modifiés. Ils ont également discuté d'autres méthodes comme des essais *in vitro* pour prédire la présence d'épitopes T fonctionnels chez les personnes qui n'ont jamais été exposées à ces protéines. L'application la plus utile de la biotechnologie moderne pourrait être la mise au point d'aliments hypo-allergènes qui pourraient ensuite permettre de réduire le potentiel allergène global des protéines GM et substances nouvelles.

Toxicologie et essais d'aliments entiers

Les protocoles de réglementation actuels de Santé Canada exigent des tests toxicologiques complets, incluant des études de pharmacocinétique et des tests de génotoxicité, de cancérogénicité, de reproduction et de tératologie si le niveau de protéine nouvelle ou d'un autre composé d'aliment GM dépasse le niveau actuellement établi. L'équivalence substantielle est un outil réglementaire, étayé par des principes scientifiques judicieux et renforcé par l'OCDE. Elle sert de point de départ et non de seuil de décision pour le processus d'évaluation. L'approche comparative comporte de nombreux éléments : a) l'évaluation phénotypique; b) l'analyse de la composition des toxines et allergènes naturels et c) l'évaluation des protéines et gènes introduits. Lors de la plus récente consultation conjointe d'experts de la FAO/OMS sur les aliments issus de la biotechnologie (2000), on a conclu que même si le concept d' « équivalence substantielle » est un cadre robuste pour l'évaluation de l'innocuité, certains aspects des étapes de la méthode d'évaluation de l'innocuité pourraient être peaufinés pour se maintenir à l'avant-garde des progrès de la technologie de modification génétique. Pour les cultures GM dotées de caractères plus complexes qui visent, par exemple, à améliorer les niveaux de micro nutriments, une évaluation toxicologique et nutritionnelle approfondie pourrait être requise. Un autre problème concernant le cadre d' « équivalence substantielle », c'est que la comparaison des niveaux des nutriments et des substances toxiques clés d'une variété GM avec ceux de sa contrepartie classique est limitée à la présence de composants connus. Cela empêche l'identification de composants inconnus importants qui pourraient apparaître dans l'aliment modifié.

Une difficulté importante soulevée par les tests toxicologiques ou la réalisation d'études des effets à long terme des aliments GM sur les animaux comparativement à l'évaluation de l'innocuité des médicaments ou des additifs alimentaires, c'est que la structure des aliments entiers est un mélange complexe de composés qui peuvent être testés uniquement en fonction de niveaux de dose tolérables pour la sapidité et la croissance normale des animaux testés. De telles doses pourraient ne pas atteindre des niveaux aussi élevés que les expositions humaines prévues ou pour détecter des effets indésirables subtils, rendant ainsi les données des tests toxicologiques classiques peu fiables pour l'évaluation des risques pour la santé humaine. À l'heure actuelle, nous n'avons pas de protocoles d'étude validés acceptables sur le plan biologique et statistique pour l'évaluation de l'innocuité des aliments en tant que structure d'aliment entier et par conséquent, il existe des difficultés pratiques dans l'application des tests toxicologiques classiques aux aliments GM. En conséquence, Santé Canada et les organismes internationaux (OCDE, FAO/OMS) ont reconnu le besoin d'appuyer la recherche pour l'élaboration et le développement de modèles *in vivo* pratiques et scientifiquement rigoureux pour l'évaluation toxicologique des aliments entiers.

Des scientifiques de Santé Canada, en collaboration avec des chercheurs de l'Agence canadienne d'inspection des aliments, de Pêches et Océans Canada et des universités McGill, du Manitoba et de la Colombie-Britannique se penchent sur cette question en réalisant des études sur les rats Sprague Dawley (SD) en utilisant des isoflavones de soja comme modèle de composant. Les niveaux d'isoflavones peuvent être modifiés essentiellement ou de façon secondaire par des modifications génétiques aux produits du soya. On est en train d'évaluer les effets sur le métabolisme, la reproduction, le développement général et neuronal, le système immunitaire et l'induction du cancer. Les effets indésirables éventuels de l'ingestion de poisson GM sont

déterminés de la même façon à l'aide de rat SD. On est également à mettre au point des essais *in vitro*, utilisant des isoflavones de soja et des méthodologies génomiques, en utilisant l'expression génétique et l'activation mutagène/la génotoxicité comme points extrêmes. Toutes ces études comprennent des analyses des phénomènes liés aux expressions géniques aberrantes utilisant les technologies de diagnostic moléculaire d'avant garde, comme la technologie de jeu ordonné de micro échantillons d'ADN et de protéines. Ces analyses visent à permettre l'identification des biomarqueurs moléculaires des cellules cibles et des tissus des modèles *in vivo* et *in vitro* qui sont sensibles et expressément liés aux résultats cliniques. La mise au point de biomarqueurs du genre se fondant sur des méthodes de test de la toxicité, en raison de leur sensibilité et de leur spécificité pour détecter des niveaux subtils de toxicité, peut fournir des modèles de test pour évaluer l'innocuité et la qualité nutritionnelle d'un aliment GM, soit des aliments entiers, des constituants alimentaires ou le composé en question.

Bibliographie

Société royale du Canada. *Éléments de précaution : Recommandations pour la réglementation de la biotechnologie alimentaire du Canada*, Ottawa, 2001.

FAO/OMS. (2000). *Aspects de la salubrité des aliments génétiquement modifiés d'origine végétale*, Rapport d'une consultation conjointe d'experts FAO/OMS sur les aliments produits par biotechnologie, 29 mai - 2 juin, Genève : Organisation mondiale de la santé

FAO/OMS. (2001) *Evaluation of Allergenicity of Genetically Modified Foods*, Rapport d'une consultation conjointe d'experts FAO/OMS sur l'allergénicité des aliments issus de la biotechnologie, Genève : Organisation mondiale de la santé

ANNEXE III : ATELIER SUR LES MODÈLES ANIMAUX POUR LA DÉTECTION DE L'ALLERGÉNICITÉ POTENTIELLE DES FUTURS ALIMENTS GM (NOVEMBRE 2001, OTTAWA (ONTARIO, CANADA)

Helen Tryphonas[1], George Arvanitakis[2], Elizabeth Vavasour[1] et Genevieve Bondy[1].
Direction générale des produits de santé et des aliments[1] et Direction générale de la santé environnementale et sécurité des consommateurs (SESC)[2], Santé Canada (Ottawa), Ontario Canada, K1A 0L2.

SOMMAIRE

Les allergies respiratoires et les allergies alimentaires continuent d'être un problème de santé important. Des preuves indiquent que l'incidence des allergies alimentaires dans le monde est en progression. Les estimations actuelles indiquent qu'environ 5 % des jeunes enfants et 1 à 2 % des adultes souffrent d'allergies alimentaires réelles (voir Kagan dans la présente monographie). Bien qu'il existe un nombre important de tests *in vivo* et *in vitro* pour les diagnostics cliniques des allergies chez les humains, il n'y pas de modèle animal validé pour évaluer l'allergénicité. Ce qui crée des défis importants pour les organismes de réglementation et l'industrie qui ont besoin de définir le potentiel allergène des aliments avant leur commercialisation. L'apparition de plusieurs aliments issus de la biotechnologie et de protéines industrielles nouvelles et le risque qu'ils entraînent des allergies chez les personnes prédisposées ont incité les intervenants dans le domaine de la santé et les organismes de réglementation du monde entier à trouver des approches et des méthodologies pour évaluer l'allergénicité potentielle des protéines nouvelles.

L'International Life Science Institute (ILSI) Allergy and Immunology Institute en collaboration avec l'International Food Biotechnology Council (IFBC) (Metcalfe et al, 1996) a proposé une telle approche qui a par la suite été modifiée par l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'Organisation mondiale de la santé (OMS) (FAO/OMS, 2001). L'approche FAO/OMS basée sur l'arbre décisionnel pour évaluer l'allergénicité des aliments génétiquement modifiés recommande d'adopter une méthode hiérarchique d'évaluation de l'innocuité (examinée par Metcalfe *et all*, 1996, Taylor et Hefle, 2001 et FAO/OMS, 2001). Dans cette approche, on indique que les modèles animaux, s'ils sont suffisamment élaborés et validés, pourraient fournir des informations précieuses pour la méthode d'identification de la sensibilisation potentielle aux protéines alimentaires. En réponse à cette recommandation, Santé Canada a organisé un atelier de deux jours à Ottawa les 13 et 14 novembre 2001. Plusieurs scientifiques éminents, élaborant actuellement des modèles animaux pour évaluer l'allergénicité, y ont participé pour a) examiner l'état actuel des modèles animaux de ce genre, b) définir les domaines qui doivent être perfectionnés et c) discuter de l'applicabilité de ces modèles aux prédictions d'allergénicité des aliments, incluant les OGM. On a présenté des données sur plusieurs modèles animaux en cours de développement qui utilisent des souris et des animaux autres que les souris. De plus, on a présenté des nouvelles approches incluant l'identification des épitopes antigéniques des allergènes humains à l'aide de souris transgéniques HLA et une

méthode cellulaire dendritique d'identification des épitopes cellulaires CD4+ T des allergènes potentiels des protéines. La présente monographie est composée de documents sélectionnés pertinents pour la mise au point de modèles animaux. Un résumé des éléments clés examinés lors de l'atelier suit.

Les modèles animaux actuellement élaborés comprennent le rat brun de Norvège, la souris BALB/c et une souche de souris transgéniques mise au point pour produire un antigène HLA de catégorie II. La possibilité de sensibiliser systématiquement les souris BALB/c par des injections intrapéritonéales de protéines a été explorée dans une série d'expérimentations détaillées par Kimber et Dearman (voir document dans la présente monographie). Cette approche favorise l'initiation de réponses immunitaires humorales vigoureuses de l'immunoglobuline IgG et IgE et pourrait être utile pour dépister le potentiel allergène des nouvelles protéines. Le rat brun de Norvège a une forte réaction à l'immunoglobuline (en particulier IgE). À certains égards, il ressemble à l'humain atopique à cause de sa prédisposition à développer des allergies. Des expériences préliminaires où on a utilisé de l'ovalbumine comme substance sensibilisante ont démontré que le rat brun de Norvège est une espèce prometteuse pour l'élaboration d'un modèle animal sensibilisé par provocation orale. En outre, en faisant des expériences de transfert, on a démontré que les sérums de rats bruns de Norvège sensibilisés oralement avec l'albumen de poule ou du lait de vache et que les sérums de patients allergiques à l'albumen ou au lait de vache présentaient un profil comparable d'allergènes pour ces produits alimentaires allergènes. Cela indique que la reconnaissance protéique spécifique d'anticorps induits chez le rat brun de Norvège est comparable à celle observée dans les sérums des patients allergiques (précisions de Knippels et coll. dans cette monographie).

En plus de leur utilité pour la recherche systémique sur la sensibilisation, les rats bruns de Norvège et les rats BALB/c présentent de nombreuses caractéristiques de l'asthme allergique observées chez les humains, c.-à-d., hyper-réactivité bronchique et niveaux accrus d'anticorps IgE dans le sérum et le fluide prélevé lors de lavage broncho-alvéolaire après l'exposition à des allergènes respiratoires, comme les acariens détriticoles et les moisissures. Une des limites actuelles de ces modèles, c'est que même si le rat présente beaucoup de symptômes d'asthme, il ne développe pas de maladie respiratoire chronique, contrairement à l'humain. Tôt ou tard, le rat devient tolérant à l'allergène. On est à explorer un certain nombre de possibilités pour surmonter cette limitation, comme exposer l'animal à l'allergène très jeune pour affaiblir son potentiel de tolérance.

La souris transgéniques HLA de catégorie II s'est révélée un excellent modèle d'étude des causes génétiques et moléculaires de l'hyper-réactivité allergique parce que comme chez les humains, cette souche de souris développe la pneumonie à éosinophiles, subit des dommages aux tissus pulmonaires et une hyper-réactivité des voies respiratoires après avoir été exposée aux allergènes. On l'a démontré en exposant l'animal à des extraits de petite et de grande herbe à poux. On a identifié des épitopes T, et la souris transgénique HLA à haplotype DQ a démontré des vives réactions des lymphocytes T aux extraits de petite herbe à poux. Il a été démontré que seule la souris HLA DQ présentait ces réactions, indiquant qu'une réaction spécifique existe pour différentes molécules HLA. Il a également été démontré que cette réaction a été provoquée

indirectement par des lymphocytes T-CD4+. Ce modèle est prometteur pour l'identification d'épitopes essentiels au déclenchement de réactions allergiques ainsi que pour la mise au point d'immunothérapies éventuelles (voir article de Chapoval et Chella dans la présente monographie).

On a également présenté un test fonctionnel *in vitro* qui prévoit les réactions des lymphocytes T aux épitopes peptidiques chez les humains (voir article de Stickler et coll. dans la présente monographie). On l'a mis au point expressément pour prédire les épitopes T chez les individus qui n'ont pas déjà été exposés à la protéine en question. Pour les besoins de l'évaluation allergique des protéines GM, c'est une considération très importante étant donné que l'exposition humaine aux plus récentes protéines recombinantes n'a jamais été réalisée. La définition des épitopes T des substances potentiellement allergiques pourrait également favoriser la mise au point de variants hypoallergènes, réduisant ainsi le potentiel allergène global des protéines GM et d'autres substances nouvelles.

Bien que des considérations pratiques font des rongeurs le modèle de choix pour beaucoup de laboratoires, plusieurs modèles utilisant des animaux autres que les rongeurs se sont avérés utiles pour évaluer l'allergénicité alimentaire. On a décrit le modèle utilisant des porcs et le modèle utilisant des chiens atopiques. L'avantage des deux modèles, c'est leur propension à développer des symptômes cliniques des allergies alimentaires, surtout des réactions gastro-intestinales et dermatologiques, après avoir été soumis à des antigènes alimentaires. Par contre, les réponses cliniques aux allergènes alimentaires chez les modèles utilisant des rongeurs ne sont pas les mêmes que chez l'humain.

Les porcs sont souvent utilisés en recherche comme substitut de l'humain. Les porcelets en croissance présentent des similarités anatomiques et nutritionnelles avec les humains, dont une tendance à devenir sensible ou tolérant au soya et aux protéines du lait de vache. Chez les porcs utilisés pour évaluer l'allergénicité alimentaire, les porcelets nouveaux nés sont sensibilisés aux protéines des arachides par injection intrapéritonéale d'extrait d'arachide et d'un adjuvant du choléra, suivi de deux autres injections de rappel 18 et 25 jours plus tard. La provocation orale des porcelets sensibilisés provoque des symptômes gastro-intestinaux et dermatologiques qu'on peut mesurer à l'aide de tests cutanés directs pour susciter des réactions papulo-érythémateuses ou en évaluant les modifications de la morphologie de l'intestin, incluant des oedèmes et des hémorragies. Une limite de ce modèle, qu'on surmontera sans aucun doute prochainement, c'est l'absence d'anticorps propres aux immunoglobulines E (IgE) des porcs. En conséquence, la présence d'antigènes alimentaires spécifiques IgE chez les animaux sensibilisés n'a pas encore été confirmée.

Les allergies alimentaires sont relativement communes chez les chiens, touchant près de 8 % de la population canine. Le modèle du chien atopique se fonde sur une colonie consanguine de chiens producteurs IgE. Dans ce modèle, les réactions gastro-intestinales et dermatologiques aux allergènes alimentaires auxquels on a soumis les animaux sensibilisés ont été mises en corrélation avec un nombre accru d'antigènes circulants propres aux IgE. Pour déclencher la sensibilisation, on immunise les chiens avec un vaccin viral actif, suivi de plusieurs injections

sous-cutanées d'antigènes alimentaires au cours des semaines. À ce stade, les chiens produisent des antigènes propres aux IgE, présentent des réactions papulo-érythémateuses ainsi que des signes d'oedème gastro-intestinal et d'inflammation. On a démontré l'applicabilité du modèle chien atopique dans une étude de l'allergénicité potentielle d'une variété de maïs génétiquement modifié. On a constaté que les deux extraits de feuille de maïs transgénique et non-transgénique ne causent pas d'allergie comparativement aux allergènes alimentaires courants chez les chiots sensibilisés dès la naissance avec l'un ou l'autre des extraits de protéine et des allergènes alimentaires courants comme les arachides, le soya et le lait de vache. Ces données indiquent que les modèles utilisant des animaux autres que les rongeurs ne devraient pas être négligés en tant que source de données précieuses sur l'allergénicité potentielle des aliments GM.

En résumé, on évalue actuellement le potentiel d'un certain nombre de modèles animaux utilisant des rongeurs et des animaux autres que les rongeurs pour la sensibilisation respiratoire et systémique avec des allergènes à prédire l'allergénicité des substances alimentaires, végétales et animales. Même si à l'heure actuelle il n'y pas de modèle animal unique qui satisfait idéalement aux exigences, chacun des modèles est bien fondé et lorsque validé, il peut renforcer l'évaluation globale de l'allergénicité de plusieurs substances, notamment des produits dont les protéines sont dérivées d'organismes génétiquement modifiés. La mise au point d'essais *in vitro* pour prévoir les épitopes T fonctionnels chez les personnes qui n'ont jamais été exposées à des protéines inquiétantes peut s'avérer un outil très efficace pour l'étude de l'allergénicité aux substances. L'application la plus utile de cette technique pourrait être la mise au point de variantes de substances hypo-allergènes qui pourraient ensuite permettre de réduire le potentiel allergène global des protéines GM et d'autres substances nouvelles.

Bibliographie

1. Metcalfe DD, Astwood JD, Townsend R, Sampson HA, Taylor SL, Fuchs RL (1996). « Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered crop plants », *Crit Rev Food Sci Nutr* 36(S: S165-S186).

2. FAO/OMS. (2001) *Evaluation of Allergenicity of Genetically Modified Foods*. Rapport d'une consultation conjointe d'experts FAO/OMS sur l'allergénicité des aliments issus de la biotechnologie, Genève : Organisation mondiale de la santé

3. Taylor SL. (1997). "Food from genetically modified organisms and potential for food allergy", *Env Toxicol Pharmacol* 4: 121-126.

ANNEXE IV : PHYTOESTROGÈNES : QUESTIONS RELATIVES À L'INNOCUITÉ, À LA QUALITÉ NUTRITIONNELLE ET À LA SANTÉ

G. Sarwar Gilani
Bureau des sciences de la nutrition, Direction des aliments, Santé Canada

On passera en revue les bienfaits possibles sur la santé et les effets indésirables éventuels des phytoestrogènes. On présentera les données de deux études sur les rats (une étude de 16 semaines avec des rats Sprague-Dawley et une étude continue avec des rats hypertendus prédisposés aux accidents vasculaires cérébraux) réalisées dans les laboratoires de Santé Canada pour évaluer l'innocuité des isoflavones de soja. On donnera également un aperçu des recherches prévues relativement à l'évaluation de l'innocuité des phytoestrogènes.

Étude des rats Sprague-Dawley

Lors d'une étude de 16 semaines sur des rats sevrés, on a examiné les effets de l'ajout de niveaux gradués d'isoflavones du soya (0, 50, 100, 200 and 400 mg/kg) à un régime de contrôle de la caséine sur la croissance, le cholestérol plasmatique total, les isoflavones plasmatiques et la durée du cycle du rut. On a utilisé un extrait d'isoflavone enrichie (Novasoy) et de lait maternisé au soya comme source d'isoflavones alimentaires. Selon les premières analyses, on a remarqué une augmentation des niveaux d'isoflavones plasmatiques reliés à la dose. Les données sur le plasma indiquent que l'absorption d'isoflavones à partir du lait maternisé au soya est plus faible que celle à partir de Novasoy. On a également remarqué une augmentation de la durée du cycle du rut chez les rates reliée à la dose. Le cycle des rates ayant absorbé du lait maternisé est toutefois plus court que celui des rates ayant absorbé du Novasoy contenant la même quantité d'isoflavones. Cela laisse entrevoir des différences de puissance selon la source d'isoflavones.

Étude sur les rats hypertendus prédisposés aux accidents vasculaires cérébraux

Lors d'études récentes, on a modifié la longévité des rats hypertendus prédisposés aux accidents vasculaires cérébraux (AVC), un des modèles les plus appropriés aux AVC chez les humains, en changeant le pourcentage de protéines alimentaires. Les décès causés par des AVC surviennent beaucoup plus tôt chez les animaux à qui on administre 10 % de caséines protéiniques comparativement à ceux qui suivent un régime composé de 20 à 40 % de caséines protéiniques. On a réalisé cette étude pour examiner si la source de protéines alimentaires (caséine c. isolat de protéines de soja, utilisation d'alcool pour enlever la plupart des isoflavones), le type d'acide aminé soufré supplémentaire (méthionine c. cystine), les isoflavones alimentaires et les anthocyanes modulent la longévité des rats hypertendus prédisposés aux accidents vasculaires cérébraux. Le poids corporel et la tension artérielle systolique correspondent à ceux de rats âgés de 47 jours qui ont suivi un régime semi-purifié contenant 200 g/kg de protéine (caséine ou soya) complété de méthionine ou de cystine (3 g/kg) et de 0 ou 500 mg/kg d'isoflavones (provenant de Novasoy) et de 0 ou 500 mg/kg d'anthocyanes (extrait des grains). Tous les régimes expérimentaux contenaient aussi 10 % d'huile de soya et exigeaient des niveaux d'autres nutriments. On a utilisé une solution contenant 0,5 % de chlorure de sodium pour provoquer

l'hypertension. Après 37 jours de régime, on a tué 10 animaux de chaque groupe alimentaire pour procéder à des analyses biochimiques de sang et de tissus. Elles sont actuellement en cours. Les rates des rats morts qui avaient suivi un régime composé de caséine et un régime composé de protéines de soya n'étaient pas différentes. Les décès causés par des AVC surviennent beaucoup plus tôt ($P < 0.0001$) chez les animaux à qui on a administré des suppléments de cystine comparativement à ceux à qui on a administré des suppléments de méthionine. L'ajout d'isoflavones ou d'anthocyanes a eu un effet négatif important ($P < 0.023$, $P < 0.016$) sur le taux de survie des rats.

Recherches futures prévues (2002-2003)

1. Perfectionnement des méthodes de spectrographie de masse à CLHP pour l'analyse (concentration et composition) des isoflavones des fluides et des tissus biologiques.

2. Analyse des tissus des rats de l'étude de 16 semaines et de l'étude multi-générationnelle de Santé Canada pour proposer des limites supérieures sécuritaires d'isoflavones alimentaires.

3. Réalisation d'autres évaluations de la source (endogène c. extraite) des isoflavones selon leur biodisponibilité et leur bioactivité.

4. Influence des protéines alimentaires (avec des taux d'isoflavone et de méthionine variables) sur l'incidence des AVC chez les rats hypertendus prédisposés aux accidents vasculaires cérébraux.

ANNEXE V : PROGRAMME DE LA JOURNÉE DE DISCUSSION TECHNIQUE

PROGRAMME

Le mardi 30 avril 2002 (8 h - 17 h)
Hôtel Château Cartier
Gatineau (Québec)

Introduction

En novembre 2001, le gouvernement du Canada a publié un plan d'action en réponse au rapport du Comité d'experts de la Société royale du Canada intitulé : *Éléments de précaution : Recommandations pour la réglementation de la biotechnologie alimentaire du Canada*. Le plan d'action décrit les mesures et projets précis que le Ministère entend mettre en oeuvre en réponse aux recommandations du Comité d'experts. Dans ce plan d'action, Santé Canada et d'autres ministères s'engagent également à collaborer avec des experts externes pour renforcer les modes de réglementation et les protocoles. Pour encourager les discussions techniques et le perfectionnement des connaissances techniques dans les domaines liés à la réglementation des aliments GM, Santé Canada organise des discussions techniques axées sur les aspects sanitaires et sécuritaires du plan d'action.

Cette réunion vise à recueillir des commentaires sur la façon de mettre au point les projets définis dans le plan d'action au sujet de l'innocuité et de la sécurité des aliments GM ainsi qu'à définir des nouvelles activités à entreprendre, en faisant appel à la collaboration soutenue et aux contributions d'experts externes.

8 h 00 Inscription (50 min)

8 h 50 Mot de bienvenu et d'ouverture (10 min)
Karen Dodds (Ph.D.), Directrice générale, Direction des aliments, Santé Canada

9 h 00 Aperçu des directives du Codex régissant la conduite de l'évaluation de la sécurité des aliments dérivés de plantes à ADN recombiné (10 min)
Paul Mayers, Directeur général associé intérimaire, Direction des aliments, Santé Canada

Initiatives de Santé Canada concernant les aspects sanitaires et sécuritaires du Plan d'action

Présentations :

9 h 10 Caractérisation moléculaire – volet important de l'évaluation de l'innocuité des aliments nouveaux
William Yan (Ph.D.), Chef, Division de l'évaluation, Bureau des dangers microbiens

9 h 25 Technologie des puces à d'ADN : applications et utilisations dans le domaine des OGM
Franco Pagotto (Ph.D.), Chercheur, Bureau des dangers microbiens

9 h 40 Toxicologie et allergénicité – Survol des recherches en cours et futures
Rekha Mehta (Ph.D.), sous-chef, Division de la recherche toxicologique, Bureau d'innocuité des produits chimiques

9 h 55 Phytoestrogènes : Questions relatives à l'innocuité, à la qualité nutritionnelle et à la santé
Ghulam Sarwar Gilani (Ph.D.), Chercheur principal, Bureau des sciences de la nutrition

10 h10 Mise à jour sur le projet de surveillance de la biotechnologie
Mme Rita Beregszaszy, chargée de projet, Centre de coordination de la surveillance

10 h15 Pause-santé (15 min)

10 h30 Discussion de groupes - partie A (2h)
Les participants peuvent participer à l'une des discussions suivantes :
-Caractérisation moléculaire
-Allergénicité
-Nutrition

12 h30 Pause-repas (1h)

13 h30 Discussion de groupes - partie B (2h)
Les participants peuvent participer à l'une des discussions suivantes :
-Allergénicité
-Toxicologie
-Surveillance après mise en marché

15 h 30 Pause santé (15 min)

15 h 45 Prochaines étapes (1h)

16 h 45 Mot de la fin (15 min)